

**UNTERSUCHUNGEN ZUR HÄUFIGKEIT UND
BEDEUTUNG CHROMOSOMALER
POLYMORPHISMEN DES MENSCHLICHEN
KARYOTYPS**

Heinrich Zankl

1974

Aus dem
Institut für Anthropologie und Humangenetik
und der
Arbeitsgruppe für medizinische Genetik des
Max-Planck-Instituts für Psychiatrie

UNTERSUCHUNGEN ZUR HÄUFIGKEIT UND BEDEUTUNG
CHROMOSOMALER POLYMORPHISMEN
DES MENSCHLICHEN KARYOTYPS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der biologischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität
in München

vorgelegt von
Dr.med.vet. Heinrich Zankl
aus Nürnberg

München, den 1.3.1974



Referent: Prof. Dr. Dr. G. Ziegelmayer

Coreferent: Prof. Dr. Dr. H. Cleve

Tag der mündlichen Prüfung: 28.6.1974

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung

- 1.1. Die Entwicklung der Humanzytogenetik
- 1.2. Die strukturelle Variabilität des menschlichen Chromosomensatzes
- 1.3. Das Assoziationsverhalten der akrozentrischen Markerchromosomen
- 1.4. Problemstellung

2. Material und Methodik

- 2.1. Zusammensetzung der Untersuchungsgruppen
- 2.2. Durchführung der Chromosomenanalysen
 - 2.2.1. Die Mikromethode
 - 2.2.2. Die Makromethode
- 2.3. Auswertungsmethoden
 - 2.3.1. Erfassung des Karyotyps
 - 2.3.2. Erfassung der chromosomalen Polymorphismen
 - 2.3.3. Erfassung der Satellitenassoziationen
- 2.4. Untersuchungen zur Konstanz der chromosomalen Polymorphismen

3. Ergebnisse und Diskussion

- 3.1. Die Beurteilungskriterien für chromosomale Polymorphismen
- 3.2. Der Einfluß methodischer Veränderungen auf die Konstanz der chromosomalen Polymorphismen
- 3.3. Die Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen bei Normalpersonen
- 3.4. Die Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen bei Patienten mit Down-Syndrom und deren Eltern
- 3.5. Das Alter der Eltern bei der Geburt von Kindern mit Down-Syndrom
- 3.6. Das Auftreten mehrerer chromosomaler Polymorphismen bei einer Person
- 3.7. Geschlechtsunterschiede in der Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen
- 3.8. Die Vererbung chromosomaler Polymorphismen
- 3.9. Das Assoziationsverhalten der akrozentrischen Markerchromosomen

4. Zusammenfassung

5. Literaturverzeichnis

1. EINLEITUNG

1.1. Die Entwicklung der Humanzytogenetik

Während bei Pflanzen und einigen niederen Tieren die Darstellung der Chromosomen schon seit einigen Jahrzehnten möglich war, sind erst seit relativ kurzer Zeit genauere Untersuchungen an den Chromosomen des Menschen durchführbar. Die Ursache hierfür lag in einer Reihe methodischer Schwierigkeiten. Durch Fortschritte in der Gewebekultur, die Verwendung von Colchicin als Mitosehemmstoff und durch die hypotone Behandlung der Zellen zur besseren Ausbreitung der Chromosomen wurde es 1956 erstmals möglich, die menschlichen Chromosomen darzustellen. Dabei stellten TJIO und LEVAN (1956) an Lungenfibroblasten menschlicher Embryonen und FORD und HAMERTON (1956) an Hodengewebe fest, daß der menschliche Karyotyp nicht, wie bis dahin angenommen, 48 sondern nur 46 Chromosomen enthält. Diese ersten Präparationen menschlicher Chromosomen waren allerdings noch weit davon entfernt, eine strukturelle Analyse des menschlichen Chromosomensatzes zu erlauben. Es folgten jedoch schnell eine Reihe von methodischen Verbesserungen, insbesondere die Entdeckung, daß man die Lymphozyten des menschlichen Blutes durch ein Phytohämagglutinin zur Mitose anregen kann (NOWELL 1960). MOORHEAD et al. (1960) fassten diese methodischen Verbesserungen zu einer Präparationstechnik zusammen, die es ohne allzu großen Aufwand ermöglichte, gut analysierbare Metaphaseplatten in größerer Zahl darzustellen. Bereits im gleichen Jahr wurde eine Chromosomenomenklatur eingeführt, bei der die Autosomen ihrer Länge nach angeordnet und von 1 - 22 durchnummeriert wurden (DENVER CONFERENCE 1960). Die Geschlechtschromosomen erhielten als Bezeichnung die Buchstaben X und Y. Auf Grund der Lage des Zentromers konnten mehrere Gruppen unterschieden werden, die mit den Buchstaben A-G bezeichnet wurden (LONDON CONFERENCE 1963).

1.2. Die strukturelle Variabilität des menschlichen Chromosomensatzes

Die Chromosomen der Gruppen D und G erregten schon bald besondere Aufmerksamkeit, weil sie auf den kurzen Armen Satelliten tragen und die Tendenz haben, sich in Gruppen zusammenzulagern (FERGUSON-SMITH 1961 a und b; OHNO et al. 1961). Außerdem zeigte sich, daß Mißbildungssyndrome mit numerischen und strukturellen Auffälligkeiten an diesen Chromosomen besonders häufig sind. Die beginnende zytogenetische Forschung beschäftigte sich daher besonders intensiv mit den Chromosomen dieser Gruppen und dabei konnte es nicht lange verborgen bleiben, daß die durch die akrozentrische Lagerung des Zentromers sehr kurzen Arme dieser Chromosomen nicht immer in gleicher Größe ausgebildet sind. Ähnliches gilt für die auf den kurzen Armen sitzenden Satelliten. Da man zunächst fast ausschließlich Personen mit irgendwelchen Erbkrankheiten untersuchte, wurden in diesem Anfangsstadium der Humanzytogenetik sehr schnell direkte Beziehungen zwischen solchen Varianten und der Erkrankung des Patienten gesehen. So vermuteten TJIO und PUCK (1960), daß vergrößerte Satelliten ursächlich mit dem Marfan-Syndrom zusammenhängen. Fertilitätsstörungen wurden mit vergrößerten kurzen Armen bzw. Satelliten ebenso in Zusammenhang gebracht (HIRSCHHORN 1963; SCHMID 1962), wie geistige Retardierung (VAN WIJCK et al. 1961; REITALU et al. 1964; JACOBSON et al. 1964; ELLIS und PENROSE 1960; DE LA CHAPELLE et al. 1963). Besonders häufig wurde jedoch eine indirekte Beziehung vermutet, da man annahm, daß solche ungewöhnlichen akrozentrischen Chromosomen das Auftreten eines Non-Disjunction begünstigen und dadurch zu Chromosomenfehlverteilungen mit all ihren Folgen führen können (DE GROUCHY et al. 1964; THERKELSEN 1964; CHAPTAL et al. 1966; VAMOS-HURWITZ et al. 1967; SUBRT 1968; LUCIANI et al. 1968; WOLF et al. 1968; KRAMP und NIELSEN 1969; SUBRT 1970).

Etwas später als bei den akrozentrischen Chromosomen wurde entdeckt, daß auch die Chromosomen der Gruppe E, vornehmlich das E_{16} -Chromosom, eine erhebliche Variabilität aufweisen und auch hier wurden zunächst Zusammenhänge mit bestimmten Krankheiten vermutet, wie z.B. Herzfehler (SASAKI et al. 1963; GERMAN 1966), geistige Retardierung (CRAWFORD et al. 1967), Stein-Levinthal-Syndrom (GRIMAUD et al. 1967) und Taubstummheit (FREDERICK et al. 1967).

Andere Autoren fanden am A_1 -Chromosom eine Verlängerung eines Armpaares und sahen Beziehungen zu sehr unterschiedlichen Krankheiten (COOPER

und HERNITS 1963; PATAU 1961; YUNIS und GORLIN 1963; PHILIP et al. 1965). Die Größenvariabilität des Y-Chromosoms beim Mann wurde ebenfalls häufig beschrieben, im Gegensatz zu den autosomalen Varianten jedoch nur selten in Zusammenhang mit Erkrankungen gebracht (NIELSEN 1968, 1969; NIELSEN und FRIEDRICH 1972; MULDAL und OCKEY 1962). Die allermeisten Autoren, die auf die Größenvariabilität des Y-Chromosoms hinwiesen, sahen darin eine relativ häufige individuelle Besonderheit, die zwar vererbt wird, aber ohne pathologische Bedeutung ist (MAKINO et al. 1963; DE LA CHAPELLE 1963; BENDER und GOOCH 1961; COHEN et al. 1966).

Auch bei den autosomalen Varianten kamen bald Zweifel auf, ob die vermuteten Beziehungen zu verschiedenen Krankheiten wahrscheinlich sind. Diese Zweifel wurden vor allem dadurch gestützt, daß auch nicht erkrankte Familienmitglieder dieselben chromosomalen Besonderheiten aufwiesen, wie ihre erkrankten Verwandten (VISFELDT und ANDERSEN 1969; NEU et al. 1966; MAKINO et al. 1966; ITO und MAKINO 1966; GRONWALD und SCHWEIKHARDT 1969; DE LA CHAPELLE et al. 1963; BISHUN et al. 1964). Aufgrund dieser Arbeiten und dem Nachweis, daß solche Polymorphismen auch in der Normalbevölkerung mit einer gewissen Häufigkeit vorkommen (JACOBS et al. 1964; COURT -BROWN et al. 1966; LUBS und RUDDLE 1969; 1971; WALZER et al. 1969; SANDS 1969; BATTAGLIA et al. 1971; ZANKL und ZANG 1971) werden heute nur noch selten direkte Beziehungen zwischen solchen Varianten und einer bestimmten Erkrankung angenommen. Wegen ihrer morphologischen Auffälligkeit werden Chromosomen mit strukturellen Polymorphismen auch als "Markerchromosomen" bezeichnet.

Die Ursachen dieser Variabilität konnten inzwischen durch die in neuer Zeit entwickelten Methoden zur Darstellung von Chromosomenbanden wenigstens teilweise aufgeklärt werden. CASPERSSON et al. (1970) stellten mit einer Fluoreszenzfärbung fest, daß sich einige Chromosomenabschnitte besonders stark anfärben. Neben der Zentromerregion des A_3 -Chromosoms und dem distalen Abschnitt des Y-Chromosoms zeigen auch die kurzen Arme und Satelliten der D-Chromosomen eine sehr starke Fluoreszenz. Da diese Abschnitte sich bei der autoradiographischen Markierung als spät replizierend erweisen, vermutete CASPERSSON, daß es sich um heterochromatische Regionen handelt. Dies wurde bestätigt durch Hybridisierungsversuche von ARRIGHI und HSU (1971), mit deren Methode sich diese Abschnitte

ebenfalls stark anfärben, zusätzlich aber auch noch zentromernahe Teile des A₁,E₁₆ und C₉-Chromosoms, sowie die kurzen Arme und Satelliten der G-Chromosomen. Die Autoren nehmen an, daß diese Abschnitte aus hochrepetitiver DNS bestehen und deswegen nach der Denaturierung besonders schnell wieder renaturieren, sodaß sie sich mit Giemsalösung anfärben lassen. Da CRAIG-HOLMES und SHAW (1971) nachweisen konnten, daß gerade diese Chromosomenabschnitte in ihrer Ausdehnung starken Schwankungen unterworfen sind, dürfte die Größenvariabilität der betroffenen Chromosomen wenigstens teilweise hierdurch zu erklären sein.

1.3. Das Assoziationsverhalten der akrozentrischen Chromosomen

Unter Assoziation akrozentrischer Chromosomen versteht man die Tendenz, sich in der Metaphaseplatte nicht willkürlich zu verteilen, sondern sich gruppenweise zusammenzulagern, wobei die satelliten-tragenden Regionen einander oft gegenüberstehen, sodaß rosetten-artige Gebilde entstehen (FERGUSON-SMITH 1961a und b; HUNGERFORD 1961). Für das Auftreten dieser Assoziationen dürfte die Nukleolenbildung eine wesentliche Rolle spielen. Beim Menschen erfolgt die Nukleolusorganisation wahrscheinlich ausschliesslich an den Regionen, die bei den akrozentrischen Chromosomen zwischen den kurzen Armen und den Satelliten gelegen sind (OHNO et al. 1961; FERGUSON-SMITH 1964; NANKIN 1970; ZANKL und ZANG 1972). Daher wird vermutet, daß durch das Zusammenfließen der einzelnen Nukleolen die Satellitenregionen der akrozentrischen Chromosomen zueinander in Nachbarschaft geraten. Durch Nukleolusreste oder direkte Beziehungen der Satellitenregionen untereinander werden die akrozentrischen Chromosomen häufig in dieser engen Beziehung festgehalten, sodaß diese auch nach der Chromosomenpräparation noch sichtbar sind (OHNO et al. 1961; COOKE 1972). Über die Ursachen, Bedeutung und Häufigkeit dieser Assoziationen sind in den letzten Jahren eine Reihe von Arbeiten veröffentlicht worden. Als eines der wichtigsten Ergebnisse wurde gefunden, daß es individualspezifische Assoziationsmuster gibt (ZANG und BACK 1967; VAN HEMEL und VAN BRINK 1968; ROSENKRANZ und FLECK 1969; HANSSON 1969, 1970a). Weiterhin konnte eine deutliche Altersabhängigkeit der Assoziationshäufigkeit festgestellt werden (PROKOFIEVA-BELGOVSKAJA et al. 1968; MÖLLER 1971). Auch zwischen verschiedenen Geweben be-

stehen erhebliche Unterschiede in der Assoziationshäufigkeit (FRØ LAND und MIKKELSEN 1964; HIGURASHI und COHEN 1971). Die Frage, ob geschlechtsspezifische Unterschiede im Assoziationsverhalten vorliegen, ist noch nicht geklärt. Während FRØ LAND und MIKKELSEN (1964); ZANG und BACK (1968) und VAN HEMEL (1971) bei Männern und Frauen etwa gleichviel Assoziationen fanden, beobachteten ROSENKRANZ und HOLZER (1972) bei ihren Untersuchungen regelmäßig bei Frauen eine höhere Assoziationsrate. GALPERIN (1968, 1969) stellte fest, daß bei weiblichen Mitosen die akrozentrischen Chromosomen in den Assoziationen enger benachbart sind als bei männlichen Metaphaseplatten. Die größte Schwierigkeit bei allen Untersuchungen über das Assoziationsverhalten liegt in der Tatsache, daß die Häufigkeit der Assoziationen sehr stark durch die Art der Zellkultivierung und die Technik der Chromosomenpräparation beeinflusst wird (ZANG und BACK 1968; HANSSON 1970 b; NANKIN 1970; MÖLLER 1971).

Da weiterhin keine einheitlichen Kriterien für die Bewertung einer Assoziation bestehen, sind die Ergebnisse verschiedener Autoren oft nur schwer zu vergleichen.

Die weitere Erforschung dieses Assoziationsphänomens erscheint vor allem deshalb interessant, weil seit langem die Vermutung besteht, daß solche Assoziationen bei der Zellteilung zu Chromosomenfehlverteilungen führen könnten (HARNDEN 1961; FERGUSON-SMITH 1964; OHNO et al. 1961). Diese Hypothese fand einige Unterstützung durch Berichte über erhöhte Assoziationszahlen bei Patienten mit Down-Syndrom (KIOSSOGLU 1964; ZELLWEGER und ABBO 1965; LUCHSINGER et al. 1969; ROSENKRANZ und FLECK 1969; ROSENKRANZ und HOLZER 1972). BACK und ZANG (1969) fanden allerdings bei Müttern mongoloider Kinder keine höheren Assoziationszahlen als bei weiblichen Vergleichspersonen gleichen Alters. Bei einigen Familien mit Translokationsmongolismus wurde festgestellt, daß eine starke Assoziationstendenz vererbt wurde (ZELLWEGER et al. 1966; ABBO et al. 1966).

1.4. Problemstellung

Wie aus der Literaturübersicht hervorgeht, werden heute von den allermeisten Autoren keine direkten ursächlichen Beziehungen mehr zwischen dem Auftreten chromosomaler Polymorphismen und der Entstehung von Erbkrankheiten angenommen. Ungeklärt ist jedoch bis heute, inwieweit solche Markerchromosomen das Risiko für ein Non-Disjunction in den Zellen erhöhen und dadurch für das Auftreten von Erkrankungen, die auf chromosomalen Verteilungsstörungen beruhen, eine Rolle spielen können. Diese Frage ist deshalb so schwierig zu klären, weil nur die Untersuchung einer großen Population Aufschluß geben kann und zunächst eindeutig geklärt sein muß, wie oft solche Polymorphismen in der Normalbevölkerung auftreten. Die Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen sind aber häufig nicht vergleichbar, da nicht die gleichen Untersuchungsmethoden und Kriterien verwendet wurden. So gibt z. B. COURT-BROWN (1966) die prozentuale Häufigkeit von autosomalen Varianten mit 2 bis 3 Prozent an, während LUBS und RUDDLE (1969) fast 30 Prozent Varianten gefunden haben. Die Situation wird noch dadurch kompliziert, daß es offensichtlich auch rassische Unterschiede in der Häufigkeit solcher Markerchromosomen gibt (STARKMAN und SHAW 1967; LUBS und RUDDLE 1969 und 1971). Wegen dieser Schwierigkeiten gibt es trotz der Fülle von Beobachtungen über einzelne Fälle mit chromosomalen Varianten nur wenige Arbeiten zu der Frage, ob bei Patienten mit Chromosomenfehlverteilungen eine Häufung solcher Varianten zu beobachten ist.

Für solche Untersuchungen bieten sich vor allem Patienten mit Down-Syndrom und deren Eltern an, da nur bei dieser durch eine Trisomie des Chromosoms Nr. 21 verursachten Entwicklungsstörung genügend Probanden zur Verfügung stehen. Insgesamt wurden bisher etwa 900 Patienten mit Down-Syndrom und 300 Eltern solcher Patienten auf das Vorkommen von Markerchromosomen untersucht. Die Mehrzahl der Autoren beschrieben eine erhöhte Zahl struktureller Polymorphismen sowohl bei Mongoloiden als auch bei deren Eltern (DEKABAN et al. 1963; WOLF et al. 1964; HAMERTON et al. 1965; EDGREN et al. 1966; MIKKELSEN 1967; STARKMAN und SHAW 1967). In den neuesten Untersuchungen (SANDS 1969; BATTAGLIA et al. 1971) wurde jedoch dieser Befund nicht bestätigt. Leider enthielten diese beiden Arbeiten nur Angaben über Patienten mit Down-Syndrom, aber nicht über deren Eltern. Trotz der relativ großen Zahl von untersuchten Fällen sind die darauf aufgebauten Aussagen etwas problematisch, da mit Ausnahme

einer Arbeit (STARKMAN und SHAW 1967) alle Untersuchungsserien ohne eine einwandfreie Kontrollgruppe durchgeführt worden waren. In einigen Arbeiten wurden als Vergleichspopulation die Serie von COURT-BROWN et al. (1964) herangezogen (HAMERTON et al. 1965; EDGREN et al. 1966; MIKKELSEN 1967), ohne daß sichergestellt war, daß genau die gleichen Kriterien verwendet wurden. SANDS (1969) und BATTAGLIA et al. (1971) verglichen die bei Mongoloiden gefundenen Werte mit denen von anderen Patienten und deren Verwandten, die einen nicht pathologischen Chromosomenbefund aufwiesen. Dabei blieb jedoch unberücksichtigt, daß diese Personen durchaus eine über der Norm liegende Anzahl von Varianten haben könnten. In den übrigen Arbeiten wurden keinerlei Angaben über die Normalwerte gemacht (DEKABAN et al. 1963; WOLF et al. 1964; KAHN und ABE 1969).

Aus diesen Gründen erschien es sinnvoll, diese Frage nochmals aufzugreifen und dabei besonderen Wert auf die Auswahl der Kontrollgruppen und auf möglichst eindeutige Kriterien zur Erfassung der Polymorphismen zu legen.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit sollte das Assoziationsverhalten der akrozentrischen Markerchromosomen mit strukturellen Polymorphismen an den kurzen Armen und an der Satellitenregion untersucht werden, da sich hieraus vielleicht Hinweise auf die biologische Bedeutung solcher Varianten ergeben könnten.

Erstaunlicherweise konnte trotz der umfangreichen Literatur über die Satellitenassoziationen nur wenige Arbeiten gefunden werden, die sich mit dem Assoziationsverhalten der akrozentrischen Markerchromosomen beschäftigen. Während THERKELSEN (1964) und VAMOS-HURNITZ (1967) keine erhöhte Assoziationstendenz bei solchen Chromosomen fanden, beobachteten ROCCHI et al. (1971) und VORMITTAG et al. (1972) deutlich erhöhte Assoziationsraten. Die widersprüchlichen Ergebnisse lassen sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß in diesen Arbeiten jeweils nur wenige Personen, die meist noch miteinander verwandt waren, untersucht wurden. Das vorliegende relativ große Material bot Gelegenheit, zur Klärung dieser Frage beizutragen.

2. MATERIAL UND METHODIK

2.1. Zusammensetzung der Untersuchungsgruppen

Folgende Personengruppen standen für die Untersuchungen zur Verfügung:

- 280 phänotypisch unauffällige, unselektierte Neugeborene (147 männlich, 133 weiblich), bei denen im Rahmen einer prospektiven Untersuchungsreihe über Schwangerschaftsverlauf und Kindsentwicklung, Nabelschnurblutproben zur Chromosomenanalyse entnommen wurden.
- 100 Erwachsene (50 weiblich, 50 männlich) im Alter von 21 bis 42 Jahren (Mittelwert 27,2 bzw. 25,1). Die Blutproben von je 31 männlichen und weiblichen Probanden wurden in einer Münchner Blutbank von unselektierten Blutspendern entnommen. Die übrigen Chromosomenanalysen wurden von gesunden Institutsangehörigen etwa gleichen Alters gewonnen.
- 304 Patienten mit Down-Syndrom (141 weiblich, 163 männlich) im Alter von wenigen Tagen bis zu 25 Jahren (Mittelwert 7,3 bzw. 7,9).
- 210 Eltern von mongoloiden Kindern (116 Mütter, 94 Väter) im Alter von 16-51 Jahren (Mittelwert 29,5 bzw. 32,7).
- 300 Patienten oder Verwandte von Patienten (150 männlich, 150 weiblich), die in den letzten 3 Jahren in unserem Labor zytogenetisch untersucht worden waren und einen numerisch und grobstrukturell unauffälligen Chromosomensatz aufwiesen. Das Alter dieser Personen betrug wenige Tage bis zu 81 Jahren (Mittelwert 18,4 bzw. 19,6). Die Mitosen dieser Gruppe wurden jedoch wegen der Heterogenität nur für die Assoziationsuntersuchungen verwendet.

2.2. Durchführung der Chromosomenanalysen

2.2.1. Die Mikromethode (modifiziert nach ARAKAKI und SPARKES 1963)

Bei dieser Methode wurden den Probanden 5-10 ml Blut steril entnommen, wobei das Auffanggläschen 0,2 ml phenolfreies Heparin enthielt (HOFFMANN LA ROCHE, 2600 E/ml). 0,8-1 ml dieses Blutes wurden jeweils in ein silikonisiertes Erlenmeyer-Kölbchen einpipettiert, das bereits 8 ml Medium enthielt. Das Kulturmedium bestand zu 80 % aus MC COY 5 A Medium (GIBCO), 20 % foetalem Kälberserum (DIFCO) und Antibiotica (200 E/ml Penicillin und 15 mg/ml Streptomycin HOECHST). Zur Stimulierung der Lymphozytentransformation und damit der Zellteilung wurden 0,2 ml Phytohaemagglutinin (WELLCOME) zugesetzt. Nachdem die Kulturen mit einem Gasgemisch (95 % Pressluft und 5 % CO₂) für etwa 10 Sekunden begast worden waren, wurden sie im Brutschrank bei 37°C für 72 Stunden inkubiert. 3-4 Stunden vor Abbruch der Kultur wurden 0,03 µg/ml des Mitosehemmstoffs Colcemid (CIBA) hinzugegeben. Die abgebrochenen Kulturen wurden in silikonisierten Spitzröhrchen für 15 Minuten bei 1000 UpM zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und verworfen, das Zellsediment in etwa 5 ml einer auf 37°C vorgewärmten 0,7% Natriumcitratlösung bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Bei dieser Hypotoniebehandlung kommt es zu der für die Chromosomendarstellung so wichtigen Quellung der Zellen. Nach nochmaligem Zentrifugieren wurde der Überstand wieder abpipettiert und die Zellen in einem frisch angesetzten Fixationsgemisch aus 3 Teilen Methanol und 1 Teil Eisessig fixiert. Um ein Verklumpen der Zellen zu vermeiden, wurde das Fixiermittel zunächst nur tropfenweise und unter ständigem Schütteln zugegeben, dann wurde auf etwa 10 ml aufgefüllt und mit einer silikonisierten Pasteurpipette das Zellsediment vorsichtig resuspendiert. Nach etwa 15 minütiger Einwirkungsdauer des Fixationsgemisches wurde es abzentrifugiert und durch 5 ml neues Fixiermittel ersetzt, worin die Zellen erneut suspendiert wurden. Dieser Vorgang wurde 1-2 mal wiederholt, wonach das Zellsediment weiss und der Überstand klar waren.

Für die weitere Präparation wurde nochmals etwa soviel Fixiergemisch zugegeben, wie Zellsediment vorhanden war. Die Zellsuspension wurde in die Pipette aufgesaugt und aus wenigen Zentimetern Entfernung auf einen fettfreien, mit eiskühlem destilliertem Wasser benetzten Objektträger aufgetropft. Nach dem Dekantieren der überschüssigen Flüssigkeit wurde der Objektträger zur Trocknung mehrfach durch die Flamme eines Bunsenbrenners gezogen und aus flachem Winkel kräftig angeblasen. Dieser Trocknungsvorgang, der gleichzeitig eine gute Spreitung der Mitosen bewirkte, wurde seit etwa einem Jahr durch Auflegen auf eine etwa 60°C heisse Heizplatte erreicht.

Die Färbung der luftgetrockneten Präparate erfolgte entweder mit Orcein oder mit Giemsalösung. Für die Orceinfärbung wurde 1 g synthetisches Orcein (GURR) in 45 ml Eisessig und 55 ml aqua dest. gelöst und filtriert. Nach 35-45 minütiger Färbung wurden die Präparate durch eine aufsteigende Alkoholreihe und durch Xylol gezogen und mit Eukitt eingedeckt.

Die Giemsa-Färbung erfolgte mit 1:50 verdünnter und filtrierter Giemsalösung (MERCK) für 20 Minuten. Anschließend wurden die Präparate luftgetrocknet durch Butanol, Butanol-Xylol-Gemisch (1/1) und Xylol gezogen und mit Eukitt eingedeckt.

Für Neugeborene und Säuglinge wurde die Mikromethode etwas modifiziert, da von diesen Patienten häufig nur sehr wenig Kapillarblut durch Punktion der Ferse gewonnen werden konnte. Es wurden deshalb nur 0,4 ml Blut dem Kulturmedium zugesetzt. Die Kultur wurde bereits nach 50 Stunden abgebrochen, ansonsten waren die Präparationsschritte gleich.

2.2.2. Die Makromethode (modifiziert nach MOORHEAD et al. 1960)

Diese Methode unterscheidet sich von der Mikromethode hauptsächlich dadurch, daß kein Vollblut in Kultur genommen wird, sondern nur die abgetrennten Leukozyten. Da man dafür jedoch erheblich mehr Blut brauchte, und die Abtrennung nicht immer einwandfrei möglich war, wurde diese Methode in unserem Labor in den letzten Jahren nicht mehr angewendet.

Im einzelnen wurde bei der Makromethode wie folgt vorgegangen: Etwa 10-20 ml Blut wurden mit einer heparinisierten Spritze entnommen und mit 0,3 ml Phytohaemagglutinin versetzt. Anschliessend wurde das Blut in Eiswasser abgekühlt und bei 5°C mit 300-350 UpM für 5 Minuten zentrifugiert. Jeweils 3 ml des Plasmas, das die Leukozyten enthielt, wurden mit 7 ml Medium 199 (DIFCO) gemischt. Nach Einstellung des pH auf etwa 7,3 wurden die Kulturen für 72 Stunden bebrütet. Alle übrigen Präparationschritte unterschieden sich nicht von denen bei der Mikrokultur.

2.3. Auswertungsmethoden

2.3.1. Erfassung des Karyotyps

Von jedem Fall wurden etwa 20 Mitosen fotografiert (Zeiss-Photomikroskop mit Neofluar-Ph 3 100/1,30 Ø1-Objektiv). Es wurde ein orthochromatischer Film benutzt (Copex-Ortho AGFA; 10-12 DIN). Das vom Negativ angefertigte Bildmaterial (Photopapier Agepe P 90 AGFA) wies eine 2600-fache Endvergrößerung auf. Auf diesen Vergrößerungen wurden die Chromosomen gezählt und die nach ihrer Morphologie unterscheidbaren Chromosomengruppen A-G durch Farbmarkierungen gekennzeichnet. Geplatzte Mitosen mit weniger als 46 (bzw. 47 Chromosomen bei Down-Patienten) wurden ausgeschieden.

2.3.2. Erfassung der chromosomalen Polymorphismen

Zu diesem Zweck erschienen Bezugsgrößen innerhalb der gleichen Mitose besonders geeignet. Um die eigenen Ergebnisse mit denen von LUBS und RUDDLE vergleichen zu können, wurden deren Kriterien übernommen und nur insoweit ergänzt, als sie noch nicht eindeutig genug waren.

In der folgenden Tabelle sind Kriterien nur für die chromosomalen Varianten aufgeführt, die in unserer Untersuchungserie gefunden wurden.

Tabelle 1: Die Kriterien zur Erfassung der chromosomalen Polymorphismen

Chromosom	Variante	Kriterium
A ₁	Verlängerung der langen Arme (1q+)	lange Arme erheblich länger als die des größeren der beiden A ₂ -Chromosomen
A ₂	Verlängerung der langen Arme (2q+)	lange Arme erheblich länger als die des homologen Chromosoms
D ₁₃₋₁₅	Verlängerung der kurzen Arme (Dp+)	kurze Arme mindestens so lang wie die des E ₁₈ -Chromosoms mit den längsten Kurzarmen
	Vergrößerung der Satelliten (Ds+)	Satelliten größer als die kurzen Arme des betreffenden Chromosoms
E ₁₆	Verlängerung der langen Arme (16q+)	lange Arme länger als die Kurzarme des größten C-Chromosoms
	Verkürzung der langen Arme (16q-)	lange Arme kürzer als die des E ₁₈ -Chromosoms mit den kürzesten Langarmen
E ₁₇	Verlängerung der kurzen Arme (17p+)	kurze Arme mindestens so lang wie die des E ₁₆ -Chromosoms mit den längsten Kurzarmen
E ₁₈	Satelliten an den kurzen Armen (18ps)	keine Bezugsgröße notwendig
G ₂₁₋₂₂	Verlängerung der kurzen Arme (Gp+)	kurze Arme mindestens so lang wie die des E ₁₈ -Chromosoms mit den längsten Kurzarmen
	Vergrößerung der Satelliten (Gs+)	Satelliten größer als die Kurzarme des betroffenen Chromosoms
	Verlängerung der langen Arme (Gq+)	lange Arme mindestens so lang wie das ganze größte F-Chromosom
Y	Verlängerung der langen Arme (Yq+)	lange Arme mindestens so lang wie das ganze größte F-Chromosom
	Verkürzung der langen Arme (Yq-)	lange Arme kürzer als die des kleinsten G-Chromosoms

Wenn in einem Fall eine der Varianten aus Tabelle 1 auftrat, so wurde überprüft, ob es sich um einen Zufallsbefund handelte, oder ob diese Variante regelmäßig auftrat. Regelmäßigkeit wurde angenommen, wenn die Variante mindestens in der Hälfte aller Mitosen die aufgeführten Kriterien erfüllte. Die dazu notwendigen Längenmessungen wurden mit dem Stechzirkel durchgeführt.

2.3.3. Erfassung der Satellitenassoziationen

Im wesentlichen wurden die von ZANG und BACK (1968) aufgestellten Kriterien verwendet. Danach wurden 2 oder mehr akrozentrische Chromosomen als assoziiert bewertet, wenn folgende Bedingungen erfüllt waren (siehe auch Abbildung 1):

- Der Abstand zwischen den Chromosomen durfte nicht größer sein als die Länge des langen Armes des größten G-Chromosoms in der betreffenden Mitose.
- Die assoziierenden Chromosomen mußten mit ihren kurzen Armen zueinander gelagert sein und durften nicht unterhalb der "Zentromerlinie" liegen, die quer zur Längsachse des Chromosoms verläuft.
- Wenn zwei Chromosomen auf der gleichen Längsachse lagen, wurden Abstände bis zur Länge des langen Armes des größten D-Chromosoms toleriert.

2.4 Untersuchungen zur Konstanz der chromosomalen Polymorphismen

Bei insgesamt 5 Probanden mit nachgewiesenen Markerchromosomen (2 x Dp+; 2 x Gp+; 1 x Gs+) wurden Mikrokulturen angesetzt und jeweils 50 Mitosen nach Giemsa- und Orceinfärbung im Hellfeld untersucht und dabei wurde festgehalten, in wievielen Mitosen das Markerchromosom nachweisbar war.

Von den gleichen Kulturen wurden jeweils 50 orceingefärbte Metaphaseplatten im Hellfeld und im Phasenkontrast fotografiert und festgestellt, wie oft das Markerchromosom entsprechend den Kriterien nachgewiesen werden konnte.

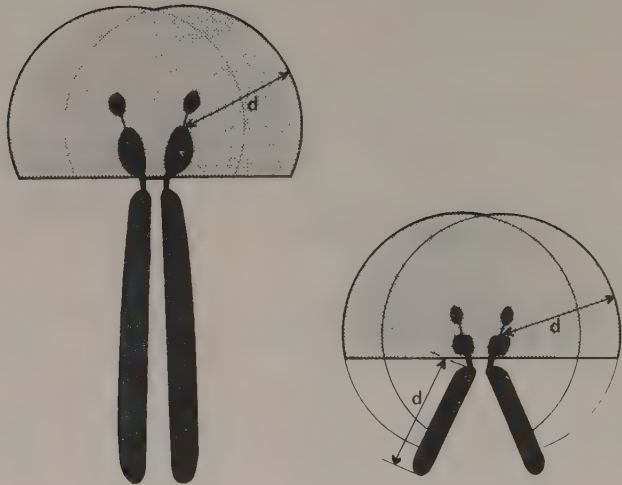


Abbildung 1: Kriterien für die Assoziation zweier akrozentrischer Chromosomen (nach Zang und Back 1968)
d = Länge des langen Armes des größten G-Chromosoms in der betreffenden Metaphasenplatte

Von den 5 oben genannten Probanden wurde auch eine Blutprobe nach der Makromethode angezüchtet. 50 orceingefärbte Mitosen aus diesen Kulturen wurden jeweils mit 50 Mitosen aus der Mikrokultur im Phasenkontrast in Bezug auf die Häufigkeit der Markerchromosomen verglichen.

3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

3.1. Die Beurteilungskriterien für chromosomale Polymorphismen

Eine generelle Schwierigkeit bei der Beurteilung chromosomaler Varianten ist dadurch gegeben, daß die Ausprägung sehr variabel ist. Da die Kriterien jedoch so gewählt werden mußten, daß eine einwandfreie Erkennung der Markerchromosomen sichergestellt war, wurden nur die eindeutigen strukturellen Abweichungen erfaßt und viele kleinere Polymorphismen blieben unberücksichtigt.

Auch die Tatsache, daß die Größe der Varianten beim gleichen Probanden infolge des unterschiedlichen Spiralisationsgrades der Chromosomen von Mitose zu Mitose schwankte, erschwerte die objektive Beurteilung, da absolute Größenmaße nicht angewendet werden konnten. Es mußten daher Bezugsgrößen gesucht werden, die eine Größenbestimmung innerhalb der gleichen Mitose erlaubten und so eindeutig waren, daß möglichst kein subjektiver Ermessensspielraum offenblieb. Die bei Beginn der Untersuchungen verwendeten Kriterien (Maßeinheit: langer Arm des größten G-Chromosoms der jeweiligen Mitose) wurden nach Erscheinen der sehr ausführlichen Arbeit von LUBS und RUDDLE (1969) in deren gut erfaßbare Kriterien übergeführt, um einen Vergleich der Ergebnisse zu ermöglichen. Die Kriterien von LUBS und RUDDLE mußten nur dort ergänzt werden, wo als Bezugspunkt ein bestimmtes Chromosom angegeben wurde, ohne Angabe darüber, welches der beiden Homologen als Reverenz anzusehen war. Eine solche Unterscheidung erschien jedoch notwendig, da z.B. die kurzen Arme an einem Chromosom Nr. 18 sich größenmäßig durchaus von denen des homologen Partners unterscheiden können. In der vorliegenden Arbeit wurde daher als Bezugsgröße immer das größere der beiden Homologen gewählt.

Ein weiteres Problem bei der Beurteilung chromosomaler Varianten entstand durch die Frage, ab wann ein solcher Marker als regelmäßig auftretend bezeichnet werden konnte, da er, wie bereits erwähnt, nicht in allen Mitosen gleich deutlich sichtbar war.

In einigen Untersuchungen wurde das Problem dadurch gelöst, daß mehrere Personen zur Untersuchung herangezogen wurden (STARKMAN und SHAW 1967; SANDS 1969). Weniger zeitaufwendig erschien jedoch die Vorgabe eines bestimmten Prozentsatzes von Zellen, in dem die Variante beobachtet werden mußte, bevor sie als regelmäßig vorhanden bewertet wurde. Einige Autoren wählten als Mindestprozentsatz 80% (BARTFIELD und MORILL 1965; COOPER und HIRSCHHORN 1962; DE LA CHAPELLE 1963). MIKKELSEN (1967) beschränkte sich jedoch auf 50%. In der vorliegenden Arbeit wurden ebenfalls 50% vorgegeben, weil bei höheren Werten auch Varianten ausgeschlossen werden mußten, die in Mitosen von hervorragender Qualität eindeutig zu erkennen waren, aber aus präparativen oder abbildungstechnischen Gründen in einem beträchtlichen Prozentsatz von Zellen nicht in Erscheinung traten.

Für die Beurteilung vergrößerter Satelliten an D und G-Chromosomen konnten wegen der sehr unterschiedlichen Erscheinungsform dieser Varianten nicht die oben genannten Kriterien für die Konstanz des Auftretens angewendet werden. Sie wurden in der Weise variiert, daß regelmäßig vergrößerte Satelliten dann angenommen wurden, wenn diese in mehreren Mitosen einwandfrei nachweisbar waren und wenn gleichzeitig in mindestens der Hälfte der übrigen Mitosen das Markerchromosom durch Vergrößerung der kurzen Arme erkennbar war. Über die Variabilität in der Darstellung vergrößerter Satelliten wurde auch in der Literatur schon mehrfach berichtet (DE LA CHAPELLE 1963; REITALU 1964; VAMOS-HURWITZ et al. 1967; WOLF et al. 1968). Als Ursache wird vermutet, daß der Satellitenstiel durch die Chromosomenpräparation sehr unterschiedlich kontrahiert wird, wodurch die Satelliten oft so stark an die kurzen Arme herangezogen werden, daß sie von diesen nicht mehr unterschieden werden können. Weiterhin muß in Bezug auf die vergrößerten Satelliten noch erwähnt werden, daß auch ihre Struktur unterschiedlich sein kann.

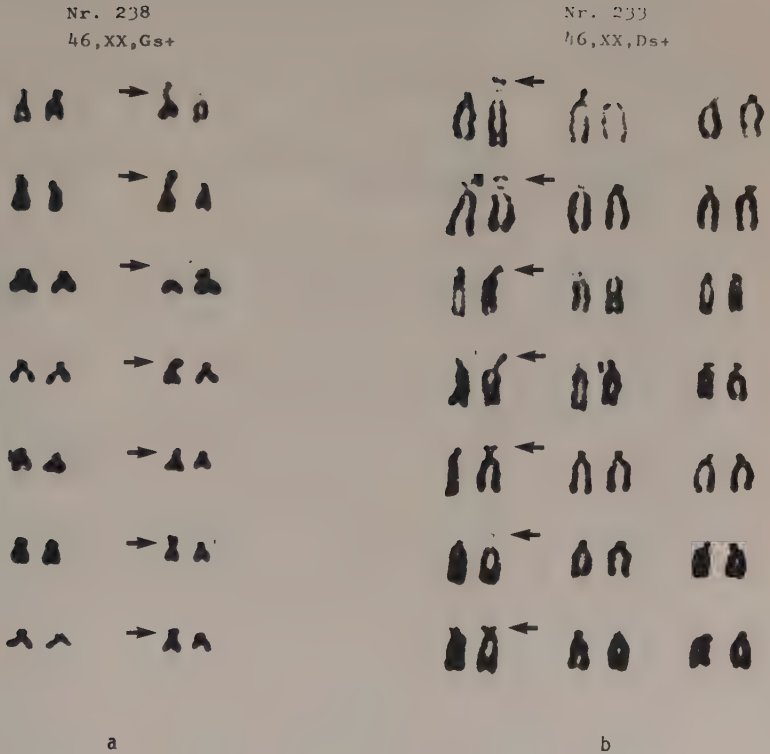


Abbildung 2: Die Variabilität der Darstellbarkeit von Satelliten-
veränderungen an akrozentrischen Chromosomen
a: G-Chromosom mit Doppelsatelliten (nur an einigen der
Markerchromosomen deutlich sichtbar)
b: D-Chromosom mit vergrößerten Satelliten

So konnte man manchmal beobachten, daß der vergrößert erscheinende Satellit in Wirklichkeit aus einer Verdoppelung normal großer Satelliten bestand, oder daß der Satellitenstiel verdickt war. Da eine solche genaue Unterscheidung jedoch nur sehr selten möglich war, wurden diese Varianten in der Gruppe "vergrößerte Satelliten" mitgezählt. (siehe Abb.2)

3.2. Der Einfluss methodischer Veränderungen auf die Konstanz der chromosomalen Polymorphismen

Da das zur Verfügung stehende Mitosenmaterial im Laufe mehrerer Jahre gesammelt wurde, haben methodische Weiterentwicklungen dazu geführt, daß nicht alle Methoden hinsichtlich der Zellkultivation, sowie der Färbung und photographischen Dokumentation der Chromosomen für alle Probanden völlig konstant gehalten werden konnten.

Die Hauptveränderungen erfolgten durch die Umstellung der Leukozytenkultivierung nach MOORHEAD et al. (1960) auf die Vollblutmethode nach ARAKAKI und SPARKES (1963), da hierfür erheblich weniger Blut benötigt wird. Im Laufe der Jahre wurde auch die Färbung der Chromosomen von der Orceinfärbung auf die Giemsafärbung umgestellt, wobei gleichzeitig das bis dahin angewendete Phasenkontrastverfahren in der Mikrophotographie verlassen wurde, weil im Hellfeld die Struktur der Chromosomen besser zu beurteilen ist.

Über die Auswirkungen solcher methodischer Änderungen auf die Darstellbarkeit der chromosomalen Polymorphismen gibt es bisher nur sehr wenig Literatur. THERKELSEN (1964) berichtete, daß im Vergleich zur Orceinfärbung, nach Giemsafärbung eine größere Variabilität in der Darstellung der verlängerten kurzen Arme eines G-Chromosoms zu beobachten war. MILLER et al. (1962) stellen fest, daß nach Feulgenfärbung die Zahl der sichtbaren Satelliten größer war als nach Färbung mit Orcein und Acetocarmin. Die einzelnen Satelliten erschienen jedoch nach Feulgenfärbung kleiner. Da aus der Literatur nur diese wenigen Hinweise entnommen werden konnten, erschien es notwendig, eigene Untersuchungen zu diesem Problem durchzuführen, um entscheiden zu können, ob man das Material in seiner Gesamtheit zur Auswertung verwenden konnte oder nicht.

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, wurde hierzu verglichen, ob sich die Häufigkeit des Auftretens von Markerchromosomen bei den wichtigsten

Tabelle 2: Untersuchungen zur Konstanz der chromosomalen Polymorphismen
(Bei 5 Personen jeweils 50 Mitosen ausgewertet)

Markertyp	Zahl der Mitosen mit Marker				χ^2 -Test
	Gs+	Dp+	Gp+	Gp+	
Giemsafärbung (Mikrokultur, Hellfeld)	32	36	42	38	39
Orceinfärbung (Mikrokultur, Hellfeld)	30	34	40	37	42
Hellfeld (Mikrokultur, Orcein)	30	34	40	37	42
Phasenkontrast (Mikrokultur, Orcein)	33	37	44	40	39
Mikrokultur (Orcein, Phasenkontrast)	33	37	44	40	39
Makrokultur (Orcein, Phasenkontrast)	35	41	40	42	41

$p > 0,05$

$p > 0,05$

$p > 0,05$

methodischen Änderungen wesentlich verschiebt. Der χ^2 -Test ergab, daß in keinem Fall ein signifikanter Unterschied auftrat. Die Häufigkeit, mit der die Markerchromosomen von Fall zu Fall nachweisbar waren, schwankte jedoch relativ stark, da die Güte der Chromosomendarstellung relativ unterschiedlich war. Es zeigte sich bei allen Untersuchungen, daß die Markerchromosomen am häufigsten beobachtet werden konnten, wenn die Metaphaseplatten sehr gut gespreitet und die Chromosomen noch weitgehend entspiralisiert waren. Sogenannte "C-Metaphasen", in denen durch die Colchicineinwirkung die Chromosomen extrem spiralisiert erschienen, konnten häufig nur schwer oder garnicht beurteilt werden.

Bei diesem methodischen Vergleich fiel weiterhin auf, daß vergrößerte Satelliten regelmäßig seltener nachgewiesen wurden als die übrigen Varianten. Als Erklärung kann angenommen werden, daß, wie schon erwähnt, die Darstellung der Satelliten enorm variiert.

3.3. Die Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen bei Normalpersonen

Betrachtet man in Tabelle 3 zunächst die Ergebnisse für die Gruppe der normalen Neugeborenen und der normalen Erwachsenen, so sind in der Häufigkeit der verschiedenen Varianten mit Ausnahme des Y-Chromosoms keine deutlichen Unterschiede zu erkennen. Mit Abstand am häufigsten fanden sich Veränderungen in der Satellitenregion und an den kurzen Armen der akrozentrischen Chromosomen, wo etwa 80% aller autosomalen Varianten lokalisiert waren. In der Häufigkeit folgten das Chromosom Nr. 16 und das Y-Chromosom; alle übrigen Varianten stellten extreme Seltenheiten dar.

Die in der Literatur bisher beschriebenen Gruppen von Normalpersonen stimmen in so weit mit unseren Ergebnissen überein, als ebenfalls eine Häufung der Varianten bei den akrozentrischen Chromosomen, dem Chromosom Nr. 16 und dem Y-Chromosom gefunden wurde. Die prozentuale Häufigkeit schwankt jedoch von Autor zu Autor ganz erheblich. Mit Abstand die höchsten Zahlen nennen LUBS und RUDDLE (1969), die in fast 30% der über 4000 untersuchten Neugeborenen autosomale Polymorphismen beschrieben. Diese Ergebnisse übersteigen unsere Beobachtungen um mehr als das Doppelte und sind

Tabelle 3: Die Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen

autosomale Varianten															gonosomale Varianten			
	gesamt	Dp+	Ds+	Gp+	Gs+	Gq+	16q+	16q-	17p+	18ps	1q+	2q+	gesamt	Yq+	Yq-			
normale Neugeborene (280)	n	35	15	4	5	3	1	3	1	1	0	1	3	3	0			
	%	12,5	5,4	1,4	1,8	1,1	0,4	1,1	0,4	0,4	0	0,4	2,1	2,1	0			
normale Erwachsene (100)	n	11	5	1	1	1	0	2	0	0	1	0	3	2	1			
	%	11	5	1	1	1	0	2	0	0	1	0	6	4	2			
Eltern mingo- loider Kinder (210)	n	32	12	3	5	7	0	3	1	0	1	0	5	5	0			
	%	15,2	5,7	1,4	2,4	3,3	0	1,4	0,5	0	0,5	0	5,3	5,3	0			
mongoloide Kinder (300)	n	51	22	4	5	10	0	6	2	0	1	1	6	6	0			
	%	17,0	7,3	1,3	1,7	3,3	0	2,0	0,7	0	0,3	0,3	3,7	3,7	0			

vorallem deshalb so auffällig, weil in der vorliegenden Studie weitgehend die gleichen Kriterien verwendet wurden. Als Erklärung für diese Unterschiede muß man annehmen, daß die kleinen Ungenauigkeiten in der Definition der Kriterien bei LUBS und RUDDLE, die eingangs bereits beschrieben wurden, doch erheblichen Einfluß auf die Gesamtzahl der Varianten hatte. In einer späteren Arbeit (LUBS und RUDDLE 1971) werden die Zahlen von den Autoren selbst als überhöht bezeichnet. Es ist auch zu berücksichtigen, daß die Angaben von LUBS und RUDDLE auf zwei Zellen pro Proband beruhen, im Gegensatz zu 20 Mitosen in der vorliegenden Serie. Schliesslich muß auch noch beachtet werden, daß in der von LUBS und RUDDLE untersuchten Population ein erheblicher Anteil negroider Probanden vertreten war, von denen mehrfach berichtet wurde, daß sie erheblich mehr Polymorphismen aufweisen als die europide Bevölkerung (STARKMAN und SHAW 1967; LUBS und RUDDLE 1969 und 1971).

In der Studie von COURT-BROWN (1965) wurden erheblich niedrigere Angaben über die Häufigkeit chromosomaler Varianten gemacht. Autosomale Polymorphismen wurden nur in etwa 2% der 500 untersuchten Probanden gefunden, Y-Varianten bei etwa 2% der männlichen Probanden. Da in dieser Studie keine genauen Kriterien angegeben wurden, kann man nur auf Grund der Abbildungen vermuten, daß ausschließlich sehr extreme Varianten bewertet wurden. Ähnliches gilt für die Serie von WALZER et al. (1969), die etwa 1% autosomale Varianten fanden, diese niedrige Zahl jedoch selbst auf ihr abgekürztes Untersuchungsverfahren zurückführten.

Neben diesen Untersuchungen, in denen völlig unausgewählte Normalpersonen erfasst wurden, gibt es noch einige Untersuchungsserien, die an Personen durchgeführt wurden, die aus irgendeinem Grund zur zytogenetischen Untersuchung gekommen waren, bei denen aber ein normaler Karyotyp und meistens auch ein unauffälliger Phänotyp gefunden worden war. Oft handelte es sich dabei um Verwandte von Patienten, sodaß diese Gruppen nur unter Vorbehalt als normale Kontrollen angesehen werden können. BATTAGLIA et al. (1971) fanden in einer Gruppe von 250 Personen etwa 10% autosomale Varianten und 5% Y-Varianten. SANDS (1969) beobachtete in 2,8% von 150 Pro-

banden vergrößerte Kurzarme an den akrozentrischen Chromosomen. In beiden Arbeiten wurden keine Angaben über die Erfassung der Varianten gemacht. Ein Vergleich der eignen Ergebnisse mit denen aus der Literatur ist somit praktisch nicht durchführbar, da sie entweder an nicht auslesefreien Populationen oder ohne exakte Definition der Bewertungskriterien gewonnen wurden.

3.4. Die Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen bei Patienten mit Down-Syndrom und ihren Eltern

Ein Vergleich der Anzahl von Varianten in den verschiedenen Gruppen der vorliegenden Untersuchung zeigt, daß die Mongoloiden und deren Eltern erhöhte Werte aufweisen. Bemerkenswerterweise sind jedoch ausschließlich die Varianten an den kurzen Armen und Satellitenregionen der akrozentrischen Chromosomen vermehrt, während die Polymorphismen an den anderen Chromosomen gegenüber den Normalpersonen fast unverändert bleiben. Dieser Unterschied konnte zwar statistisch noch nicht gesichert werden, der χ^2 -Wert lag jedoch nur knapp unter der Signifikanzgrenze von 5%, sodaß man doch eine Tendenz zur Vermehrung akrozentrischer Markerchromosomen bei Mongoloiden und deren Eltern annehmen kann.

Aus der Literatur sind bisher wenige Untersuchungen über den chromosomalen Polymorphismus bei Mongoloiden und ihren Eltern bekannt. DEKABAN et al. (1963) beschäftigten sich als erste mit dieser Frage und fanden bei 14 Down-Patienten in 6 Fällen kleinere zytogenetische Auffälligkeiten. Neben den bekannten Varianten an den akrozentrischen Chromosomen beschrieben diese Untersucher allerdings auch ungewöhnlichere Befunde, wie Vergrößerung der kurzen Arme an einem Chromosom Nr. 18, eine Deletion und eine fragliche Translokation. Aufgrund dieser auffälligen Befunde wurde dieser Frage in den nächsten Jahren vermehrte Aufmerksamkeit geschenkt. HAMERTON et al. (1965) fanden in einer großen Serie von 208 Familien mit mongoloiden Kindern bei 7 Familien erbliche chromosomale Polymorphismen. Ein Vergleich mit den Ergebnissen von COURT-BROWN et al. (1965) ließ die Autoren eine erhöhte Variabilität der Chromosomenstruktur bei Mongoloiden und ihren

Eltern vermuten. Zum gleichen Ergebnis kamen EDGREN et al. (1966) und MIKKELSEN (1967), die ebenfalls die gefundenen Variantenzahlen mit den Ergebnissen von COURT-BROWN verglichen und deutliche Unterschiede feststellten. Die Aussagekraft dieser Untersuchungen wird allerdings dadurch beeinträchtigt, daß 2 Serien verglichen wurden, die nicht im gleichen Labor und nicht unter den gleichen Untersuchungsbedingungen durchgeführt worden waren. Wie stark sich selbst kleine Unterschiede in den Beurteilungskriterien auswirken können, zeigt der unter 3.3. vorgenommene Vergleich der eigenen Ergebnisse bei Normalpersonen mit denen von LUBS und RUDDLE (1969). Bei der Untersuchungsreihe von STARKMAN und SHAW (1967), die zu den gleichen Ergebnissen wie die bisher zitierten Arbeiten führte, wurden jeweils 20 europide und 20 negroide Patienten mit Down-Syndrom mit der gleichen Anzahl von Kontrollpersonen verglichen. Die höchsten Variantenzahlen wurden bei den negroiden Down-Patienten gefunden, was sich zum Teil durch die schon erwähnte Häufung solcher Polymorphismen bei Negern erklären läßt. Aber auch die Mongoloiden europäischer Abstammung wiesen mehr Auffälligkeiten auf, als die europäischen Kontrollgruppe. Das Zahlenmaterial war in dieser Untersuchung allerdings so gering, daß der Zufall die Ergebnisse noch stark beeinflussen konnte.

Im Gegensatz zu diesen Befunden konnte SANDS (1969) bei einem Vergleich von 232 Monoloiden und 142 anderen Patienten mit normalem Karyotyp keine erhöhte Zahl von Varianten bei den Patienten mit Down-Syndrom beobachten. Hierbei ist jedoch problematisch, daß als Kontrollgruppe "Patienten" genommen wurden, die sich in der Häufigkeit chromosomaler Varianten durchaus von der Normalbevölkerung unterscheiden können. Dieser Vorbehalt gilt auch für die Ergebnisse von BATTAGLIA et al. (1971), die bei etwa 300 Patienten mit nicht pathologischem Karyotyp und Phänotyp 9,1 % Varianten fanden, bei 163 Patienten mit Down-Syndrom jedoch nur 4,9 %. KAHN und ABE (1969) registrierten bei etwa 80 mongoloiden Kindern und deren Eltern 2,8 % Varianten, da jedoch kein Vergleich mit einer Normalpopulation vorgenommen wurde, sind diese Zahlen wenig aussagekräftig. Leider reichte auch das vorliegende Material nicht aus, um die Frage eindeutig zu klären, ob bei Mongoloiden und vor allem

ihren Eltern chromosomale Polymorphismen gehäuft auftreten. Dies ist um so bedauerlicher, als es für die genetische Familienberatung von eminenter Bedeutung wäre, zu wissen, ob das Vorliegen solcher Varianten als Hinweis auf ein erhöhtes Risiko für Chromosomenfehlverteilungen gedeutet werden kann.

3.5. Das Alter der Eltern bei der Geburt von Kindern mit Down-Syndrom

Die Aufschlüsselung des Alters erschien interessant, da vor allem ein deutlich geringeres Alter der Mütter mit Markerchromosomen im Vergleich zu Müttern ohne solche chromosomalen Auffälligkeiten durchaus als ein Hinweis auf die Bedeutung dieser Varianten für die Entstehung des Mongolismus gedeutet werden könnte. Das Durchschnittsalter lag jedoch in beiden Gruppen bei knapp 30 Jahren. Das insgesamt auffällig niedrige Alter der Mütter (PENROSE und SMITH 1966 gaben für Mütter mongoloider Kinder ein Durchschnittsalter von 34,4 Jahren an) dürfte darauf zurückzuführen sein, daß bevorzugt junge Mütter zytogenetisch untersucht werden, da bei diesen die Gefahr einer erblichen Komponente besonders groß ist. Es ist infolge dessen möglich, daß ein eventuell vorhandener Altersunterschied verdeckt wurde.

Direkt vergleichbare Untersuchungen konnten in der Literatur nicht gefunden werden. Wichtig sind in diesem Zusammenhang jedoch die Arbeiten von EDGREN et al. (1966) und STARKMAN und SHAW (1967), die bei mongoloiden Kindern mit, bzw. ohne chromosomale Polymorphismen das Alter der Mütter verglichen. In beiden Arbeiten wurden keine Unterschiede im Durchschnittsalter der Mütter bei der Geburt ihrer mongoloiden Kinder gefunden. Allerdings blieb unberücksichtigt, ob das Markerchromosom von der Mutter oder vom Vater ererbt wurde oder ob es neu entstanden war.

Das Alter der Väter mit und ohne Markerchromosomen wurde ebenfalls ermittelt; es war jedoch erwartungsgemäß mit 32,2 bzw. 33,1 Jahren in den beiden Gruppen nur wenig unterschiedlich.

3.6. Das Auftreten mehrerer chromosomaler Polymorphismen bei einer Person

Neben den Unterschieden zwischen den verschiedenen Probandengruppen konnte festgestellt werden, daß bei 22% der Personen, die ein Markerchromosom aufwiesen, zusätzlich noch ein weiteres, und in einem Fall sogar ein drittes Chromosom mit strukturellen Auffälligkeiten gefunden wurde. Dieser Prozentsatz liegt zwar nicht allzu auffällig über dem Erwartungswert von etwa 14%, es muß aber noch zusätzlich berücksichtigt werden, daß in weiteren Fällen neben einem deutlichen akrozentrischen Markerchromosom an einigen anderen Chromosomen der D und G-Gruppe ebenfalls relativ große Kurzarme oder Satelliten beobachtet wurden, die aber nicht die in unseren Kriterien geforderte Größe erreichten und daher in den Tabellen unberücksichtigt blieben.

Ober Einzelfälle mit 2 Markerchromosomen wurde mehrfach berichtet (CHANDRA und HUNGERFORD 1963; HIRSCHHORN 1963; BISHUN et al. 1964; DEKABAN et al. 1963; SFOUGARIS 1964; VAMOS -HURWITZ 1967; STARK-MAN und SHAW 1967; SINHA et al. 1968; SANDS 1969). In einigen Arbeiten konnte der Nachweis geführt werden, daß das eine Markerchromosom vom Vater, das andere von der Mutter ererbt wurde (DEKABAN et al. 1963; SFOUGARIS 1964; WOLF et al. 1968). In den bisher durchgeführten Populationsuntersuchungen konnte jedoch kein Hinweis auf ein überproportionales Vorkommen von Personen mit mehr als einem Markerchromosom gefunden werden. Die Frage erscheint außerordentlich wichtig, vor allem auch wegen der Beobachtung in dem vorliegenden Material, daß beim Vorhandensein eines Markerchromosoms der D oder G-Gruppe oft mehrere andere akrozentrische Chromosomen mehr oder minder deutliche Veränderungen an den kurzen Armen bzw. der Satellitenregion aufweisen. Aus diesem Befund könnte man schließen, daß diese Markerchromosomen nicht nur als vererbte morphologische Auffälligkeiten anzusehen sind, sondern daß sie in manchen Fällen Ausdruck einer genetischen Störung sein könnten, die zur mangelhaften Kontraktion der kurzen Arme bzw. der Satellitenregionen führen. In diese Richtung weisen auch Arbeiten von ZELLWEGER und ABBO (1965) und ABBO (1966), die bei einigen Familien mit mongoloiden Kindern eine erhöhte Bereitschaft zu chromosomalen Mosaiken nachgewiesen haben und glauben, daß die Ursache hierfür

in einem autosomalen dominanten Gen zu suchen ist, das zu verstärkter Satellitenassoziation und damit zu Chromosomenfehlverteilungen führt. Es erscheint durchaus möglich, daß die bei diesen Patienten erhöhte Zahl von Assoziationen akrozentrischer Chromosomen letztlich durch Veränderungen im Bereich der unterhalb der Satelliten liegenden nukleolusorganisierenden Region verursacht wurden. Diese Frage soll jedoch im Zusammenhang mit den Assoziationsuntersuchungen weiter diskutiert werden.

3.7. Geschlechtsunterschiede in der Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, wurde bei allen Probanden mit Ausnahme der Eltern mongoloider Kinder, eine mehr oder minder deutliche Häufung chromosomaler Varianten beim männlichen Geschlecht beobachtet. Bei den Eltern der mongoloiden Kinder wiesen jedoch die Mütter erheblich mehr Varianten auf, als die Väter. Diese Unterschiede waren zwar statistisch nicht signifikant, der Trend ist jedoch so deutlich, daß wegen der Wichtigkeit dieser Frage weitere Untersuchungen angezeigt erscheinen.

Leider wurden in der Literatur nur sehr selten die Anzahl der beobachteten Varianten nach dem Geschlecht getrennt angegeben. Lediglich aus den Arbeiten von COURT-BROWN (1965) und WALZER (1969) lassen sich gewisse Hinweise entnehmen, daß in den von ihnen untersuchten Normalpopulationen die männlichen Probanden etwas häufiger chromosomale Polymorphismen aufwiesen. Allerdings ist in beiden Arbeiten die Zahl der beschriebenen Varianten so gering, daß die unterschiedliche Verteilung durchaus zufallsbedingt sein kann. Aus einer persönlichen Mitteilung von LUBS und RUDDLE war zu entnehmen, daß in ihrem sehr umfangreichen Material kein deutlicher Geschlechtsunterschied feststellbar war.

Über die Geschlechtsverteilung der Markerchromosomen bei Eltern mongoloider Kinder berichteten bisher nur KAHN und ABE (1969) und MIKKELSEN (1967). In beiden Untersuchungen waren die Mütter etwas häufiger betroffen, die Zahlen waren jedoch zu gering, um diesem Unterschied erhebliche Bedeutung zuzumessen.

Tabelle 4: Geschlechtsunterschiede in der Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen

	Probanden insgesamt		Probanden mit autosomalen Varianten	
	männlich	weiblich	männlich	weiblich
normale Neugeborene	147	133	20 (13,6%)	9 (6,8%)
normale Erwachsene	50	50	6 (12,0%)	5 (10,0%)
Eltern mongoloider Kinder	94	116	11 (11,7%)	21 (18,1%)
mongoloide Kinder	160	144	25 (15,6%)	19 (13,2%)

Die Frage, ob sich bei Müttern mongoloider Kinder ein verstärkter chromosomaler Polymorphismus findet, läßt sich daher weder aus der vorliegenden Literatur noch aus den eigenen Ergebnissen endgültig beantworten. Auffälligerweise stimmt jedoch das häufigere Vorkommen chromosomaler Varianten bei Mongoloiden in der Tendenz gut mit dem stärkeren Betroffen-sein der Mütter überein, sodaß die Vermutung, daß akrozentrische Marker Chromosomenfehlverteilungen begünstigen, durch die vorgelegten Ergebnisse doch eine gewisse Unterstützung erfährt.

3.8. Die Vererbung chromosomaler Polymorphismen

Insgesamt konnten 25 Familien gefunden werden, bei denen mindestens ein Familienmitglied ein Markerchromosom aufwies. In 9 dieser Familien war bei einem Elternteil eine autosomale Variante nachweisbar, ohne daß sie auch bei dem mongoloiden Kind gefunden werden konnte. In den 16 Fällen, in denen das Kind ein Markerchromosom aufwies, wurde dies regelmäßig auch bei einem der beiden Eltern beobachtet. In 2 Familien davon wurde sowohl beim Vater wie bei der Mutter eine chromosomale Auffälligkeit gefunden, wobei das Kind jeweils nur einen der beiden Marker ererbt hatte.

5 Y-Varianten, die bei männlichen Mongoloiden auftraten, konnten ohne Ausnahme auch bei den Vätern beobachtet werden. Diese Befunde sprechen dafür, daß es sich bei den chromosomalen Polymorphismen in der Regel um erbliche Merkmale handelt und nicht um Spontanmutationen bei dem betroffenen Individuum. Nach den mendelschen Regeln müßte man erwarten, daß die Hälfte der Nachkommen, bei denen Vater oder Mutter ein Markerchromosom aufweisen, ebenfalls dieses Chromosom tragen. In unserem Material war dies in 16 von 25 Familien der Fall, diese Zahl weicht jedoch nicht wesentlich von dem Erwartungswert ab.

Auch in der Literatur wurden solche Polymorphismen fast ausschließlich als erbliche Varianten beschrieben (COOPER und HIRSCHHORN 1962; DEKABAN et al. 1963; DE GROUCHY et al. 1964; GERMAN 1966; M'KKESEN 1967; FRANCOIS et al. 1968). Nur in einem Fall wurde eine Vergrößerung der Kurzarme eines D-Chromosoms beschrieben, ohne daß bei Vater oder Mutter ein ähnliches Markerchromosom beobachtet werden konnte. (SERGOVICH et al. 1964). Da der Patient deutliche Symptome des Down-

Syndroms aufwies, aber nur 46 Chromosomen hatte, vermuteten die Autoren eine spontane partielle Translokation eines G-Chromosoms.

Die Entstehung dieser familiären Markerchromosomen ist noch weitgehend unbekannt, wahrscheinlich liegen ihnen irgendwelche Mutationsvorgänge wie Dublikationen oder Inversionen zu Grunde, die jedoch konstitutives Heterochromatin betreffen (GERMAN 1966; WOLF et al. 1968; CRAIG-HOLMES und SHAW 1971). Andere Autoren vermuten als Ursachen Kondensations- und Spiralisationsdifferenzen, die zwar genetische Ursachen aber wahrscheinlich keine genetischen Auswirkungen haben (COOPER und HIRSCHHORN 1962; THERKELSEN 1964; MOORES et al. 1966; LUCIANI et al. 1968). Das spontane Auftreten scheint relativ selten zu sein, ganz im Gegensatz zu Translokationen, wie z.B. beim Translokationsmongolismus, wo die weitaus größere Zahl von Fällen bei dem Patienten entstehen, während ein Translokationscarrier unter den Eltern relativ selten zu finden ist (HAMERTON et al. 1965; MIKKELSEN 1967).

3.9. Das Assoziationsverhalten der akrozentrischen Markerchromosomen

Es wurde bereits eingangs erwähnt, daß bei Patienten mit Chromosomenanomalien die akrozentrischen Chromosomen besonders häufig betroffen sind. Deshalb wurde schon von verschiedenen Autoren diskutiert, ob ein Zusammenhang besteht, zwischen dem für akrozentrische Chromosomen typischen Assoziationsverhalten und einer besonderen Neigung zu mitotischen und meiotischen Verteilungsstörungen.

Da auf Grund des vorliegenden Materials ein häufigeres Auftreten von Markerchromosomen bei Müttern mongoloider Kinder wahrscheinlich gemacht werden konnte, war es von Interesse, zu prüfen, ob derartige Markerchromosomen ein vom Erwartungswert abweichendes Assoziationsverhalten zeigen.

Aus der Literatur ist bekannt, daß sowohl unterschiedliche Präparations- und Kulturbedingungen (ZANG und BACK 1968; NANKIN 1970; MÖLLER 1971), als auch Unterschiede im Alter der Probanden (PPOKOFIEVA-BELGOVSKAJA et al. 1968; MÖLLER 1971) wesentlichen Einfluß auf die Assoziationshäufigkeit haben. Deshalb erschien es uns unmöglich,

die Mitosen unserer Population von Probanden mit Markerchromosomen, die im Zeitraum von mehreren Jahren und mit verschiedenen Techniken präpariert worden waren untereinander, bzw. mit einer Kontrollpopulation auf ihre Assoziationshäufigkeiten zu vergleichen. Beim gleichen Probanden konnte jedoch die Assoziationshäufigkeit des Markerchromosoms mit derjenigen der übrigen akrozentrischen Chromosomen verglichen werden. Dabei wurden nur die Assoziationen zwischen 2 Chromosomen berücksichtigt, da bei größeren Gruppen die Verhältnisse so kompliziert werden, daß nicht mehr erkennbar ist, welche Assoziationshäufigkeit als normal bezeichnet werden kann. Diese Beschränkung des Materials erschien gerechtfertigt, weil nur bei etwa 10% aller Assoziationen mehr als 2 Chromosomen beteiligt waren.

Bei der statistischen Auswertung wurde auf eine Aufschlüsselung in die verschiedenen Probandengruppen verzichtet, da hierfür die Gesamtzahl von Fällen mit Markerchromosomen nicht ausreichend war. Für die Chromosomen der Gruppe D war dieses Vorgehen unproblematisch, bei den G-Chromosomen mußte jedoch berücksichtigt werden, daß die mongoloiden Patienten ein G-Chromosom mehr aufweisen, wodurch sich die erwartete Assoziationshäufigkeit der Markerchromosomen in Bezug auf die übrigen G-Chromosomen von 1:3 auf 1:4 verschiebt. Aus diesem Grund mußten die mongoloiden Fälle mit einem Marker-G getrennt ausgewertet werden. Da es durchaus möglich erschien, daß Markerchromosomen mit verlängerten Kurzarmen sich in ihrem Assoziationsverhalten anders verhalten, als Chromosomen mit Veränderungen in der Satellitenregion, wurden die entsprechenden Gruppen gesondert ausgewertet.

Die in Tabelle 5 zusammengefaßten Ergebnisse bestätigen einen solchen Unterschied. Sowohl in der Gruppe G als in der Gruppe D assoziierten Chromosomen mit verlängerten Kurzarmen erheblich seltener als die übrigen Chromosomen der gleichen Gruppe. Der berechnete Assoziationswert wich im χ^2 -Test hoch signifikant vom Erwartungswert ab ($p < 0,001$ bzw. $0,025$). Demgegenüber zeigten die D und G Chromosomen mit vergrößerten Satelliten eine stärkere Assoziationstendenz als die übrigen akrozentrischen Chromosomen. Dieser Unterschied war allerdings nur für die D-Gruppe signifikant ($p < 0,05$), in der G-Gruppe erreichte er nur knapp das 10%-Niveau.

Tabelle 5: Das Assoziationsverhalten der akrozentrischen Markerchromosomen
(Gesamtzahl untersuchter Probanden: 1194; davon 127 mit Markerchromosomen)

Marker	Fälle	Mitosen	assoziierende D bzw. G-Chromosomen		Erwartung	Beobachtung	χ^2 -Wert
			mit Marker	ohne Marker			
Dp+	68	1.360	114	819	1:5	0,69:5	13,40
Ds+	14	280	50	179	1:5	1,16:5	4,40
Gp+							
Mongoloide	3	60	4	32	1:4	0,43:4	1,76
Sonstige	16	320	29	143	1:3	0,60:3	6,08
Gs+							
Mongoloide	8	160	24	64	1:4	1,48:4	2,90
Sonstige	18	360	64	151	1:3	1,27:3	2,60

Aus der Literatur ist über das Assoziationsverhalten der akrozentrischen Markerchromosomen nur sehr wenig bekannt. THERKELSEN berichtete 1964 über eine Familie mit vergrößertem Kurzarm an einem G-Chromosom. Auf Grund der Abbildung wäre diese Variante allerdings nach unseren Kriterien als eine Vergrößerung der Satelliten eingestuft worden. Bei der Bestimmung der Assoziationshäufigkeit dieses Chromosoms in Bezug auf die übrigen G-Chromosomen fand sich in den Blutkulturen bei allen 3 untersuchten Probanden eine verstärkte Assoziationstendenz des Markerchromosoms. In den Fibroblastenkulturen waren dagegen die Ergebnisse sehr uneinheitlich, sodaß die Gesamtassoziationshäufigkeit keine wesentlichen Unterschiede aufwies. Es erscheint jedoch fraglich, ob es sinnvoll war, die Assoziationszahlen aus Blut- und Fibroblastenkulturen zusammenzuziehen, da bekannt ist, daß erhebliche Unterschiede bezüglich des Assoziationsverhaltens zwischen verschiedenen Gewebeskulturen bestehen (FRØLAND und MIKKELSEN 1964; PROKOPIEVA-BELGOVSKAJA et al. 1968; HIGURASHI und COHEN 1971).

VAMOS -HURWITZ et al. (1967) fanden bei einem Mongoloiden, sowie zwei normalen Geschwistern und deren Mutter ein anormales G-Chromosom, dessen Aussehen stark variierte. Die Autoren interpretierten die Variante als eine Vergrößerung der kurzen Arme, auf Grund der Abbildungen scheint jedoch auch eine Vergrößerung der Satelliten möglich. Es wurde sowohl die Assoziationshäufigkeit mit der bei entsprechenden Kontrollpersonen verglichen, als auch das Assoziationsverhalten des Markerchromosoms in Bezug auf die übrigen G-Chromosomen untersucht. In beiden Untersuchungen konnte keine Abweichung vom Erwartungswert festgestellt werden.

ROCCHI et al. (1971) fanden bei 2 phänotypisch unauffälligen Probanden Doppelsatelliten an einem Chromosom Nr. 14. Die in einem Fall durchgeführten Assoziationsstudien ergaben, daß das Markerchromosom erheblich häufiger als die übrigen D-Chromosomen assoziierte. Eine solch verstärkte Assoziationstendenz haben auch VORMITTAG et al. (1972) bei einem retardierten Patienten mit vergrößerten G-Satelliten gefunden.

Bei dem Versuch, die Bedeutung des unterschiedlichen Assoziationsverhaltens der akrozentrischen Markerchromosomen zu beurteilen, muß man auf Grund der vorliegenden Ergebnisse die verschiedenen Typen getrennt betrachten. Da die Chromosomen mit vergrößerten Kurzarmen

deutlich seltener assoziierten als normale akrozentrische Chromosomen, ist eine Chromosomenfehlverteilung infolge einer persistierenden Assoziation nicht sehr wahrscheinlich. Bei den Markerchromosomen mit Veränderungen in der Satellitenregion erscheint dagegen die Möglichkeit eines Non-Disjunction durch Erhaltenbleiben einer Assoziation in der 1. meiotischen Teilung nicht ausgeschlossen. Diese Hypothese wird noch unterstützt durch den Befund, daß bei Mongoloiden und deren Eltern besonders häufig G-Chromosomen mit vergrößerten Satelliten gefunden wurden (siehe Tabelle 3), und daß solche Markerchromosomen oft sehr enge Assoziationen eingingen.

Auf Grund der anfangs erwähnten Tatsache, daß beim Menschen die Nukleolen nur an der unterhalb der Satelliten gelegenen Region der akrozentrischen Chromosomen gebildet werden, und diese Nukleolusorganisation die Hauptursache für das Entstehen von Satellitenassoziationen darstellen dürfte, kann aus dem Assoziationsverhalten der verschiedenen Markerchromosomen auf deren unterschiedliche Beteiligung an der Produktion von Nukleolusmaterial geschlossen werden. Als Ursache hierfür ist ein Zugewinn oder Verlust ribosomaler Cistronen in der nukleolusorganisierenden Region (NOR) der akrozentrischen Chromosomen denkbar. Diese Vermutung wird gestützt durch Ergebnisse von BROSS et al. (1973) die durch Hybridisierung mit markierter r-RNS bei verschiedenen Probanden deutliche Unterschiede im Gehalt von r-DNS nachweisen konnten.

Die erniedrigten Assoziationszahlen bei Vergrößerung der kurzen Arme können als Anzeichen dafür gewertet werden, daß diese Chromosomen mehr oder minder vollständig die Fähigkeit verloren haben, einen Nukleolus zu organisieren. Da an diesen vergrößerten Kurzarmen fast nie Satelliten beobachtet werden können, dürfte die Ursache für die gestörte Nukleolusorganisation entweder in einem völligen Fehlen der nukleolusbildenden Region oder in einer perizentrischen Inversion mit ganzem oder teilweisen Verlust dieser Region begründet sein. Letztere Möglichkeit könnte gleichzeitig die Vergrößerung der kurzen Arme erklären (ELLIS und PENROSE 1960; COOPER und HIRSCHHORN 1962; GERMAN 1966).

Die erhöhte Assoziations-tendenz der Markerchromosomen mit Veränderungen in der Satellitenregion ließ vermuten, daß diese Chromosomen in erhöhtem Maße Nukleolusmaterial bilden und dadurch verstärkt zusammengehalten werden. Dafür spricht, daß in einigen Fällen in besonders guten Prämetaphasen erkannt werden konnte, daß die Vergrößerung der Satelliten aus einer Verdoppelung normal großer Satelliten bestand (siehe Abbildung 2 a). In der zwischen den beiden Satelliten gelegenen nicht färbbaren Region könnte durchaus zusätzliche ribosomale DNS lokalisiert sein.

Solche Satellitenverdoppelungen wurden schon von einigen Autoren beschrieben (REITALU 1964; LUCIANI et al. 1968; WOLF et al. 1968; ROCCHI et al 1971). Es muß allerdings noch einmal betont werden, daß die Abbildbarkeit von auffälligen Satelliten so stark schwankt, daß in unserem Material Satellitenverdoppelungen nur selten einwandfrei nachweisbar waren. Bei den meisten Markersatelliten erschien nur der Satellit vergrößert oder der sogenannte Satellitenstiel war verdickt und/oder verlängert. Da eine genauere Klassifizierung oft nicht möglich war, wurden diese Polymorphismen alle in der Gruppe "vergrößerte Satelliten" eingeordnet. Diese Heterogenität dürfte neben der insgesamt geringen Zahl von Markersatelliten bewirkt haben, daß die erhöhte Assoziations-tendenz dieser Chromosomen statistisch nur schwach belegbar war, da wahrscheinlich in dieser Gruppe Chromosomen mit vermehrtem und normalem Gehalt an r-DNS zusammengefaßt wurden.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Polymorphismen der akrozentrischen Chromosomen keine unbedeutenden morphologischen Varianten darstellen, sondern durchaus die Funktion dieser Chromosomen, insbesondere im Hinblick auf die Satellitenassoziation und die Nukleolusorganisation, beeinträchtigen können. Inwieweit dadurch das Risiko für eine Chromosomenfehlverteilung erhöht wird, konnte mit dem vorliegenden Material nicht einwandfrei geklärt werden, erscheint jedoch einigermaßen wahrscheinlich.

4. ZUSAMMENFASSUNG

Zur Feststellung der Häufigkeit chromosomaler Polymorphismen wurden bei insgesamt 894 Personen jeweils 20 Mitosen untersucht. Als Träger einer Variante wurden nur solche Probanden bewertet, bei denen in mehr als der Hälfte der untersuchten Mitosen ein Polymorphismus nachweisbar war.

Bei einer auslesefreien Serie von 280 Neugeborenen und 100 Erwachsenen wurde festgestellt, daß ca. 11% dieser phänotypisch unauffälligen Probanden strukturelle Polymorphismen der Chromosomen aufwiesen. Besonders häufig waren die kurzen Arme und Satellitenregionen der akrozentrischen Chromosomen betroffen.

Bei 304 Kindern mit Down-Syndrom (Mongolismus) und 210 Eltern solcher Kinder zeigte sich, daß in diesen beiden Gruppen etwa 16% chromosomale Varianten auftraten. Der Unterschied zu der Vergleichspopulation lag im χ^2 -Test knapp unter der Signifikanzgrenze.

Während in den beiden Kontrollgruppen und in der Gruppe der Kinder mit Down-Syndrom die chromosomalen Polymorphismen bei den männlichen Probanden häufiger vorkamen, waren bei den Eltern mongoloider Kinder die Mütter deutlich häufiger von Varianten betroffen als die Väter. Obwohl auch dieses Ergebnis statistisch nicht signifikant war, läßt sich doch ein auffällig häufiges Vorkommen solcher Varianten bei Mongoloiden und deren Mütter feststellen. Eine Begünstigung chromosomaler Fehlverteilungen durch strukturelle Polymorphismen erscheint daher nicht unwahrscheinlich. Wegen der Bedeutung eines solchen Zusammenhangs für die genetische Familienberatung sind weitere Untersuchungen an noch größeren Populationen notwendig.

Das Assoziationsverhalten der akrozentrischen Marker-Chromosomen wurde untersucht, da hieraus möglicherweise auch Hinweise auf die Bedeutung dieser chromosomalen Polymorphismen gewonnen werden konnten. Neben den bereits erfaßten Personen wurden noch 300 weitere Probanden in diese Untersuchung mit einbezogen, die als Patienten oder Verwandte von Patienten zytogenetisch untersucht worden waren, aber einen numerisch und grobstrukturell unauffälligen Chromosomensatz aufwiesen. Für die Bestimmung der Häufigkeit chromosomaler Varianten war diese Serie nicht verwendet worden, da sie nicht auslesefrei war. Für die Assoziationsun-

tersuchungen erschien sie jedoch geeignet, da hierbei nur für jeweils einen Probanden die Assoziationsfrequenz des akrozentrischen Marker-Chromosoms mit der aller übrigen Chromosomen der gleichen Gruppe verglichen wurde.

Es zeigte sich, daß Chromosomen mit verlängerten Kurzarmen seltener assoziierten als zu erwarten war. Der Unterschied war im χ^2 -Test signifikant ($p < 0,001$ für die D-Chromosomen, $p < 0,025$ für die G-Chromosomen). Die Chromosomen mit Veränderungen in der Satellitenregion zeigten im Gegensatz dazu eine verstärkte Assoziationstendenz. Allerdings war dieses Ergebnis nur für die Chromosomen der Gruppe D statistisch zu sichern ($p < 0,05$). Da Zusammenhänge zwischen Nukleolusorganisation und Assoziationsverhalten der akrozentrischen Chromosomen bekannt sind, wird angenommen, daß bei den strukturell auffälligen Chromosomen der D- und G-Gruppe auch die nukleolus-organisierende Region verändert ist. Je nach Art der Veränderung kann daraus eine erhöhte oder verminderte Bildung von Nukleolarmaterial resultieren.

Diese morphologischen Beobachtungen stimmen mit biochemischen Untersuchungen überein, wonach die für die Nukleolusorganisation verantwortlichen ribosomalen Cistronen beim Menschen zahlenmäßig eine unerwartet hohe interindividuelle Schwankungsbreite aufweisen.

5. LITERATURVERZEICHNIS

- ABBO, G., H. ZELLWEGER und R. CUANNY: Satellite association (SA) in familial mosaicism. *Helv. paediat. Acta* 21 (1966) 293-299.
- ARAKAKI, D. T. und R. S. SPARKES: Microtechnique for culturing leucocytes from whole blood. *Cytogenetics* 2 (1963) 57-60.
- ARRIGHI, F. E. und T. C. HSU: Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics* 10 (1971) 81-86.
- BACK, E. und K. D. ZANG: Untersuchungen über die Anordnung der menschlichen Metaphasechromosomen. III. Das Assoziationsmuster akrozentrischer Chromosomen bei Müttern mongoloider Kinder und bei Vergleichspersonen. *Humangenetik* 8 (1969) 47-52.
- BARTFIELD, H., S. D. MORILL: Giant satellited chromosome in Marfan's syndrome. *Lancet* 1965/I, 1336.
- BATTAGLIA, E., G. GUANTI, P. BARSANTI, P. PETRINELLI: Chromosomal survey in 298 normal subjects and 1253 cases of congenital disorders during 1966-1970. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 20 (1971) 123-173.
- BENDER, M. A. und P. L. GOOCH: An unusual lang human Y-chromosome. *Lancet* 1961/II, 463.
- BISHUN, N. P., M. N. RASHAD, W. R. M. MORTON: Enlarged satellites in father and mongol child. *Lancet* 1964/I, 988.
- BROSS, K., H. DITTES, W. KRONE, M. SCHMID, W. VOGEL: Biochemical and cytogenetics studies on the nucleolus organizing regions (NOR). I. Comparison of trisomy 21 with balanced translocation t(DqGq). *Humangenetik*, 20 (1973) 223-229
- CASPERSSON, T., L. ZECH, C. JOHANSSON: Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exptl. Cell Res.* 60 (1970) 315.
- CHANDRA, H. S., D. A. HUNGERFORD: An aberrant autosome (13-15) in a human female and her father, both apparently normal. *Cytogenetics* 2 (1963) 34-41.
- CHAPELLE (DE LA), A., P. AULA, E. KIVALO: Enlarged short arm or satellite region - a heritable trait probably unassociated with developmental disorder. *Cytogenetics* 2 (1963) 129-139.

- CHAPELLE (DE LA), A., H. HORTLING, J. EDGREN: A cytogenetical and clinical study of 4 males with hypogonadism, one with mongolism, and their relatives. *Hereditas* 50 (1963) 351-360.
- CHAPTAL, J., R. JEAN, M. EMBERGER: Anomalie structurale d'un chromosome du group 13-15 chez un mongolien. *Arch. Franc. Pediat.* 23 (1966) 57-61.
- CHICAGO CONFERENCE: Standardization in Human Cytogenetics. Birth Defects: Original Article Series II, 2 (1966), The National Foundation New York.
- COHEN, M. M.: Racial differences in the length of the human Y-chromosome. *Cytogenetics* 5 (1966) 34-37.
- COOKE, P.: Patterns of the secondary association between the acrocentric autosomes of man. *Chromosoma* 36 (1972) 221-240.
- COOPER, H. L., R. HERNITS: A familial chromosome variant in a subject with anomalous sex differentiation. *Amer. J. Human Genet.* 15 (1963) 465.
- COOPER, H. L., K. HIRSCHHORN: Enlarged satellites as a familial marker chromosome. *Amer. J. Hum. Genet.* 14 (1962) 107-124.
- COURTBROWN, W. M., P. A. JACOBS, M. BRUNTON: Chromosome studies on randomly chosen men and women. *Lancet* 1965/II, 561-562.
- COURTBROWN, W. M., P. A. JACOBS, K. E. BUCKTON: Chromosome studies on adults. Cambridge University Press London 1966.
- CRAIG-HOLMES, A. P. und M. W. SHAW: Polymorphism of human constitutive heterochromatin. *Science* 174 (1971) 702-704.
- CRAWFORD, M. N., H. H. PUNETT, G. G. CARPENTER: Deletion of the long arm of chromosome no. 16 and an unexpected Duffy-blood-group phenotype reveal a possible autosomale linkage. *Nature* 215 (1967) 1075.
- DEKABAN, A. S., M. N. BENDER, G. E. ECONOMOS: Chromosome studies in mongoloids and their families. *Cytogenetics* 2 (1963) 61-75.
- EDGREN, J., A. DE LA CHAPELLE, R. KÄRRIXINEN: Cytogenetic study of 73 patients with Down's syndrome. *J. Mental. Defic. Res.* 10 (1966) 47-62.
- ELLIS, J. R., L. S. PENROSE: Enlarged satellites and multiple malformations in the same pedigree. *Ann. Hum. Genet. (London)* 25 (1960) 159-162.

- FERGUSON-SMITH, M. A. und S. D. HANDMAKER: Observations on the satellited human chromosomes. *Lancet* 1961/I, 638-640.
- FERGUSON-SMITH, M. A. und S. D. HANDMAKER: Observations on the satellited human chromosomes. *Lancet* 1961/II, 1362.
- FERGUSON-SMITH, M. A. und S. D. HANDMAKER: The association of satellited chromosomes with specific chromosomal regions in cultured human somatic cells. *Ann. Hum. Genet.* 27 (1963) 143-156.
- FERGUSON-SMITH, M. A.: The sites of nucleolus formation in human pachytene chromosomes. *Cytogenetics* 3 (1964) 124-134.
- FORD, C. E., J. L. HAMERTON: The chromosomes of man. *Nature (Lond.)* 178 (1956) 1020-1023.
- FRANCOIS, J.: Short arm enlargement in a G chromosome. *A. Ge. Me. Ge.* 17 (1968) 468-486.
- FREDERIC, J., G. LENNES: Mise en evidence par analyse statistique d'une petite translocation chez un sujet atteint des syndrome de Stein-Leventhal. *J. Genet. Hum.* 16 (1967) 25.
- FRØLAND, A. und M. MIKKELSEN: Studies on satellite associations in human cells. *Hereditas* 52 (1964) 248.
- GALPERIN, H.: Comparative study of the association of human acrocentric chromosomes in male and female mitosis. *Cytogenetic* 7 (1968) 447-454.
- GALPERIN, H.: Relative positions of homologous chromosomes or groups in male and female metaphase figures. *Humangenetik* 7 (1969) 265-274.
- GALPERIN, H.: Number of each type of acrocentric association and probability of its occurrence in human male and female metaphase cells. *Cytogenetics* 8 (1969) 439-446.
- GERMAN, J.: The chromosomal structural load in man. *Texas Rep. Biol. Med.* 24 (1966) 347-364.
- GRIMAUD, R., M. S. GILGENKRANTZ, P. BEMOL: Anomalies morphologiques des chromosomes de la 16 paire et appareil auditif. *Acta otolaringol.* 63 (1967) 44.
- GROUCHY (DE), J., S. THIEFFRY, M. ARTHUIS: Chromosomes marqueurs familiaux et aneuploidie. *Ann. Genet.* 7 (1964) 76-83.

- GRONWALD, P., F. SCHWEICKARDT: Besondere Befunde bei Abweichungen von Chromosomen der G-Gruppe. A. Ge. Me. Ge. 18 (1969) 92-96.
- HAMERTON, J. L., F. GIANELLI, P. E. POLANI: Cytogenetics of Down's syndrome. I. Data on a consecutive series of patients referred for genetic counselling and diagnosis. Cytogenetics 4 (1965) 171-185.
- HANSSON, A.: Demonstration of differences in patterns of satellite associations among human individuals. Hereditas 63 (1969) 455.
- HANSSON, A.: Differences in the satellite association pattern in the human population. Hereditas 66 (1970) 21-30.
- HANSSON, A.: The influence of culture method on satellite association pattern in human lymphocytes: macroculture versus microculture. Hereditas 66 (1970) 31-34.
- HARDEN, D. G.: The chromosomes, in: Recent Advances in Human Genetics. ed.: PENROSE, L. S., Boston, Little u. Brown, Lond. Churchill (1961).
- HEMEL (VAN), J. O. und J. M. VAN BRINK: Human satellite association. Proc. XIIth Int. Congr. Genet. (Tokio) 1 (1968) 213.
- HEMEL VAN, J. O.: Studies on human chromosome satellite association. Naturwiss. Dissert. Bronder-Offset N. V. Rotterdam (1971).
- HIGURASHI, M. und P. E. COHEN: Comparison of chromosomal behaviour in cultured lymphocytes and fibroblasts from patients with chromosomal disorders and controls. Cytogenetics 10 (1971) 273-285.
- HIRSCHHORN, K.: Abnormalities of the acrocentric chromosomes. Proc. XI Int. Congr. Genet. 1963, s. 304.
- ITO, N., S. MAKINO: A preliminary note on a case of trisomic Down's syndrome with a short arm deletion of a G-group (21-22) chromosome. Proc. Japan. Acad. 42 (1966) 1207-1210.
- JACOBS, P. A., M. BRUNTON, W. M. COURT BROWN: Cytogenetic studies in leucocytes on the general population subjects of ages 65 years and more. Ann. Hum. Genet. Lond. 27 (1964) 353.
- JACOBSON, T. S., B. TISCHLER, J. R. MILLER: Enlarged chromosomal satellites associated with mental retardation and digital arches in three generations. Ann. Hum. Genet. Lond. 28 (1964) 21-26.

- KAHN, J., K. ABE: Consistent and variable chromosome anomalies in parents of children with Down's syndrome. *J. med. Genet.* 6 (1969) 137-149.
- KIOSSOGLU, K. A., E. H. ROSENBAUM, W. J. MITUS und W. DAMASHEK: Multiple chromosomal aberrations in a patient with acute granulocytic leucemia associated with Down's syndrome and twinning. Study of a family with a possible tendency to non-disjunction. *Blood* 24 (1964) 134-159.
- KRAMP, J. L., J. NIELSEN: Enlarged short arms of a small acrocentric chromosome in relatives of a boy with Down's syndrome. *Dan. Med. Bull.* 16 (1969) 16-17.
- LONDON CONFERENCE: The London conference on the normal human karyotype. *Cytogenetics* 2 (1963) 264-268.
- LUBS, H. A., F. H. RUDDLE: Applications of quantitative karyotypy to chromosome variation in 4400 consecutive newborns. in: *Human population cytogenetics*, ed: P. A. Jacobs, Pfizer Medical Monographs 5; Edinburgh University Press 1969 S. 120-142.
- LUBS, H. A., F. H. RUDDLE: Chromosome polymorphism in American Negro and white populations. *Nature* 233 (1971) 134-136.
- LUCHSINGER, U., E. BÖHLER, K. MEHES und G. STADLER: Satellitenassoziationen bei autosomalen und gonosomalen Chromosomenanomalien und bei Hypothyreosen. *Humangenetik* 8 (1969), 53-61.
- LUCIANI, M., A. STAHL, J. VAGUE: Huit cas de satellite double et occasionnellement triple sur un chromosome du group D dont six cas familiaux. *Ann. Genet.* 11 (1968) 157-160.
- MAKINO, S., J. MURAMATO, S. TABATA: A survey of a familial transmission of an anomalous autosome in group 13-15. *Chromosoma* 18 (1966) 371-379.
- MAKINO, S., M. S. SASAKI, K. YAMADA: A long Y-chromosome in man. *Chromosoma* 14 (1963) 154-161.
- MIKKELSEN, M.: Down's syndrome at young maternal age: cytogenetical and genealogical study of 81 families. *Ann. Hum. Genet. Lond.* 31 (1967) 51-69.
- MILLER, O. J.: Normal variations in the human karyotype. *Trans. N. Y. Acad. Sci.* 24 (1962) 372.

- MOORES, E. C., J. M. ANDERS, R. EMANUEL: Inheritance of marker chromosomes from a cytogenetic survey of congenital heart disease. *Ann. Hum. Genet. Lond.* 30 (1966) 77-84.
- MOORHEAD, P. S., P. C. NOWELL, W. J. MELLMAN, D. M. BATTIPS und D. A. HUNDERFORD: Chromosome preparations of leucocytes cultured from peripheral blood. *Expt. Cell Res.* 20 (1960) 613-618.
- MOLLER, H.: Variation in karyotypes of normal premature babies, new born babies and infants. *Humangenetik* 14 (1971) 33-43.
- MULDAL, S., C. H. OCKEY: Deletion of the Y-chromosome in a family with muscular dystrophy and hypospadias. *Brit. Med. J.* 1 (1962) 291-293.
- NANKIN, H. R.: In vitro alteration of satellite association and nucleolar persistence in mitotic human lymphocytes. *Cytogenetics* 9 (1970) 42-51.
- NEU, R. L., J. C. LEAO, L. J. GARDNER: Short arm deletion in G-group chromosomes. *Lancet* 1966/II, 390.
- NIELSEN, J.: Y-chromosome in male psychiatric patients above 180 cm tall. *Brit. J. Psychiatr.* 114 (1968) 1589.
- NIELSEN, J.: Large Y and enlarged short arms of a small acrocentric chromosome. *Hereditas* 61 (1969) 416-418.
- NIELSEN, J., U. FRIEDRICH: Length of the Y-chromosome in criminal males. *Clin. Genet.* 3 (1972) 281.
- NOWELL, P. C.: Phytohaemagglutinin: an initiator of mitosis in culture of normal human leucocytes. *Cancer Res.* 20 (1960) 462-470.
- OHNO, S., J. M. TRUJILLO, W. D. KAPLAN und R. KINOSITA: Nucleolus-organizers in the causation of chromosomal anomalies in man. *Lancet* 1961/II 123-126.
- PENROSE, L. S., G. F. SMITH: Down's anomaly. Churchill, London 1966.
- PATAU, K.: Partial trisomy syndromes: II. An insertion as cause of the O. F. D. syndrome in mother and child. *Chromosoma* 12 (1961) 573-578.
- PHILIP, J., O. FRYDENBERG, V. SELE: Enlarged chromosome no. 1 in a patient with primary amenorrhea. *Cytogenetics* 4 (1965) 329-333.

- PROKOFIEVA-BELGOVSKAJA, A. A., V. M. GINDILIS, K. N. GRINBERG, E. A. BOGOMASOV, O. A. PODUGLONIKOVA, I. J. ISAEVA, S. I. RADJABLI, S. CELLARIUS und I. V. VESCHNEVA: Association of acrocentric chromosomes in relation to cell type and age of individuals. *Exptl. Cell Res.* 49 (1968) 612-625.
- REITALU, J., S. BERGMAN, H. VADT: Mental and physical maldevelopment of a girl with an abnormal satellited chromosome group 13-15. *Hereditas* 51 (1964) 257-267.
- RIEGER, R., A. MICHAELIS, M. M. GREEN: A glossary of genetics and cytogenetics. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York 1968.
- ROCCHI, A., A. CAPOA, F. GIGLIANI: Double satellites: autoradiographic study of a chromosomal marker observed in two generations. *Humangenetik* 14 (1971) 6-12.
- ROSENKRANZ, W., S. FLECK: Die Bedeutung satellitentragender Chromosomen. *Humangenetik* 7 (1968) 9-21.
- ROSENKRANZ, W., S. HOLZER: Satellite association. A possible cause of chromosome aberrations. *Humangenetik* 16 (1972) 147-150.
- SANDS, V.: Short arm enlargements in acrocentric chromosomes. *Amer. J. Hum. Genet.* 21 (1969) 293-298.
- SASAKI, M. S., S. MAKINO, T. KAIJ: Chromosomal aberrations in congenital cardiovascular disorders of man. *Proc. Japan. Acad.* 39 (1963) 394.
- SCHMID, W.: A familial chromosome abnormality associated with repeated abortions. *Cytogenetics* 1 (1962) 199-204.
- SERGOVICH, F. R., H. VALENTINE, D. H. CARR, H. C. SOLTAN: Mongolism (Down's syndrome) with atypical clinical and cytogenetical features. *J. Paed.* 65 (1964) 192-207.
- SFOUGARIS, K.: Enlarged satellites in father and mongol child. *Lancet* 1964/I, 988.
- SINHA, A. K., R. L. BEJAR: Long Y-chromosome associated with enlarged satellites on a D-chromosome. *South. Med. J.* 61 (1968) 5-9.
- STARKMAN, M. N., M. W. SHAW: Atypical acrocentric chromosomes in negro and caucasian mongols. *Amer. J. Hum. Genet.* 19 (1967) 162-173.

- SUBRT, I., B. BLEHOVA, J. KUCERA: Aberrant chromosome 13-15 in a patient with Down's syndrome, diabetes mellitus and hyperthyreoidism and in his father. *Acta genet. Basel* 18 (1968) 38-44.
- SUBRT, J.: A further example of familial Gp+ associated with trisomy G. *Humangenetik* 9 (1970) 86-87.
- THERKELSEN, A. J.: Enlarged short arms of a small acrocentric chromosome in grandfather, mother and child, the latter with Down's syndrome. *Cytogenetics* 3 (1964) 441-451.
- TJIO, J. H., A. LEVAN: The chromosome number of man. *Hereditas* 42 (1958) 259-268.
- TJIO, J. H., T. T. PUCK, A. ROBINSON: The human chromosomal satellites in normal persons and in two patients with Marfan's syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 46 (1960) 532-539.
- VAMOS-HURWITZ, S. A., T. R. BOGGS, W. W. NICHOLS: Familial enlargement of the short arm of a small acrocentric chromosome. *Hereditas* 57 (1967) 185-197.
- VISFELDT, J., H. ANDERSEN: A variant chromosome in the 13-15 group transmitted through three generations. *Acta. Path. Microbiol. Scand.* 77 (1969) 90-98.
- VORMITTAG, W., J. KOHLBOCK, M. WENINGER: Vergrößerung der Region des kurzen Armes eines kleinen akrozentrischen Chromosoms. *Humangenetik* 14 (1972) 112.
- WALZER, S., G. BREAU, S. G. PARK: A chromosome survey of 2400 normal newborn infants. *J. Paed.* 74 (1969) 438-448.
- WIJCK (VAN), J. A., G. A. J. TIJNDINK, L. A. M. STOLTE: A case of partial trisomy. *Lancet* 1961/II 1454.
- WOLF, U., H. BAITSCH, W. KONZER, H. REINWEIN: Familiäres Auftreten eines anomalen D-Chromosoms. *Cytogenetics* 3 (1964) 112-123.
- WOLF, U., H. REINWEIN, H. LOHMANN: Zur Genetik und Klinik kleinerer Chromosomenaberrationen. *Humangenetik* 5 (1968) 107-118.
- YUNIS, J. J., R. J. GORLIN: Chromosomal study in patients with cysts of the jaw, multiple nevoid basal cell carcinoma and bifid rit syndrome. *Chromosoma* 14 (1963) 146-154.

ZANG, K. D. und E. BACK: Individual satellite association patterns. Lancet 1967/II 1423.

ZANG, K. D. und E. BACK: Quantitative studies on the arrangement of human metaphase chromosomes. I. Individual features in the association pattern of acrocentric chromosomes of normal males and females. Cytogenetics 7 (1968) 455-470.

ZANKL, H., K. D. ZANG: Structural variability of the normal human karyotype. Humangenetik 13 (1971) 160-162.

ZANKL, H. und K. D. ZANG: The role of acrocentric chromosomes in nucleolar organization. I. Correlation between the loss of acrocentric chromosomes and a decrease in the number of nucleoli in meningioma cell cultures. Virch. Arch., Abt. B Zellpath. 11 (1972), 251-256

ZELLWEGER, H. und G. ABBO: Familial mosaicism attributable to a new gene. Lancet 1965/I, 455-457.

ZELLWEGER, H., G. ABBO und R. CUANY: Satellite association and translocation mongolism. J. med. Genet. 3 (1966) 186-189.

Lebenslauf

Am 21.2.1941 wurde ich als Sohn von Dr. Hans-Ludwig Zankl und seiner Ehefrau Luise in Nürnberg geboren.

Nach Besuch der Volksschule und des naturwissenschaftlichen Gymnasiums legte ich 1960 in Köln das Abitur ab.

Nach einjähriger Dienstzeit bei der Bundeswehr immatrikulierte ich mich im Sommersemester 1961 an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. 1966 bestand ich die Tierärztliche Prüfung. 1967 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt und promovierte zum Dr. med. vet. Von 1967 bis 1969 war ich als wissenschaftlicher Assistent an der gynäkologischen Tierklinik der Universität München tätig.

Seit 1969 bin ich in der Arbeitsgruppe für medizinische Genetik des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie beschäftigt, wo ich auch die vorliegende Arbeit anfertigte.

Vom Sommersemester 1970 bis zum Wintersemester 1973 studierte ich Anthropologie und Humangenetik an der Universität München.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Zang und Herrn Professor Dr. Dr. Zieglmayer für die Überlassung des Themas und die mir jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Untersuchung.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Schwerpunktsprogramms "Schwangerschaftsverlauf und Kindesentwicklung" und der Fritz-Thyssen-Stiftung im Rahmen der Felduntersuchung "Genetische Untersuchungen an Familien mongoloider Kinder" unterstützt.

